MY-5116 のアレルギー性鼻炎に 対する効果の検討 II

—Metachromatic cell よりの脱顆粒現象に関する研究—

西 澤 芳 男

Effectiveness against Allergic Rhinitis of MY-1250,
(Metabolite of MY-5116)

—Investigation of Inhibition by MY-1250 of Degranulation
of Metachromatic Cells in Nasal Fluids of Patients with
Allergic Rhinitis—

Yoshio Nishizawa

(Shinseikai Hospital and Shiga University)

This report describes the effect of MY-5116, a new preventive drug for type I allergic disease, on the degranulation of basophils and mast cells (metachromatic cells) in nasal fluids of patients with allergic rhinitis induced by house dust antigen in the author's new method of testing allergies. (Once absorbed through the gastro-intestinal tract, MY-5116 is immediately hydrolyzed MY-1250, which has a potent antiallergic effect in animals by inhibiting the release of chemical mediators from mast cells. In this experiment MY-1250 was used instead of MY-5116.)

- 1) Degranulation occurs when metachromatic cells are stimulated by a-IgE, but not by a-IgA, a-IgD, a-IgG, a-IgM, a- κ , or a- λ .
These results suggest that degranulation occurs only when IgE antibodies in receptors on metachromatic cells are bridged with anti-IgE.
- 2) The specific antigen extracted from allergen by Yagura's method and compound 48/80 also induce degranulation of metachromatic cells in nasal smears. The optimal concentration of the specific antigen is 25 $\mu\text{g/ml}$, and that of compound 48/80 is 0.05 $\mu\text{g/ml}$.
- 3) When metachromatic cells from healthy subjects are stimulated with anti-IgE, $6.8 \pm 5.2\%$ of the cells show degranulation. However, when such cells from patients with allergic rhinitis are stimulated with anti-IgE, $83.9 \pm 11.4\%$ of cells show degranulation.

- 4) MY-1250 inhibits the specific antigen and compound 48/80 induced degranulation of metachromatic cells of patients with allergic rhinitis. MY-1250 inhibits the degranulation of metachromatic cells when it is added to the metachromatic cells before antigen-stimulation. These data suggest that MY-5116 is a new useful preventive and therapeutic drug for allergic rhinitis.

Key words: allergic rhinitis, MY-5116, MY-1250, degranulation

緒 言

アレルギー性鼻炎は鼻粘膜内に存在する好塩基球あるいは肥満細胞（以下、まとめて *metachromatic cell* と称する）に結合している抗原特異的な IgE クラス抗体とこれに対応する構造を有する抗原分子との結合により、これら細胞より *chemical mediator* が遊離することから発症する疾患であることはよく知られている¹⁾。

アレルギー性鼻炎の起因抗原の同定に関し、簡便で直接的なアレルギー性鼻炎患者の起因抗原検索法を作製できれば、抗原の固定と同時にアレルギー性の炎症反応の程度についても検定可能と考えられる。このような観点からアレルギー性鼻炎の起因抗原を簡易的、直接的に証明する *in vitro* の方法として、アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の *metachromatic cell* を抗原で刺激し脱顆粒現象を測定する方法を作製し報告した²⁾。

一方、近年合成された MY-5116（図1）はラットの実験的喘息のようなⅠ型アレルギー反応を抑制することが報告されている³⁾。

本剤の作用機序は *disodium cromoglycate*（以下 *DSCG* と略す）と同様、肥満細胞膜表面に結合した抗原特異的 IgE クラス抗体とこれに対応する構造を有する抗原分子の結合により生じる *chemical mediator* の遊離を抑制することにある³⁾。MY-5116に経口投与後、生体内に吸収されると直ちに脱エステル化され、活性代謝物 MY-1250（図1）となって薬効を発現する³⁾が、MY-5116自体には *chemical mediator* 遊離抑制作用はない。また、MY-5116はヒト気管支喘息において経口投与で有用性が認められている⁴⁾。

そこで今回、MY-5116（MY-1250）がアレルギー性鼻炎患者鼻汁中 *metachromatic cell* の脱顆粒現象に対しても抑制効果をもつか否かに関して検討し若干の知見をえたのでこれを報告する。

なお本試験はすべて *in vitro* で実施したので、被験薬には MY-5116の主要活性代謝物である MY-1250を使用した。

試薬と方法

1. 試薬

toluidine blue, *trypan blue*, *sodium hydroxide* は半井化学より、その他の試薬は分析用試薬特級を和光純薬より、*medium 199*は阪大微研より購入した。抗ヒト IgA ヤギ血清（以下 *a-IgA*、以下同様に略す）、*a-IgD*, *a-IgE*, *a-IgG*, *a-IgM*, 抗ヤギ *a-Fab* ウサギ血清および抗ヤギ *a-(Fab)*² ウサギ血清は富士臓器、抗ヒト L 鎖 γ 鎖ならびに λ 鎖抗体ヤギ血清（以下 *a- κ* , *a- λ* と略す）は生化学工業より購入し、*affinity chromatography*⁵⁾ 法にてさらに精製した抗体を使用した。皮内反应用市販抗原溶液は鳥居薬品より、*compound 48/80* および *bovine serum albumin* は Sigma より購入した。MY-1250は *tris* 塩（Lot. No. OIMC）として三菱化成工業株式会社より提供を受けた。

2. 患者

対象とした患者はアレルギー外来を受診し、家塵起因アレルギー性鼻炎が奥田の基準⁶⁾で重症度3以上の10名、（18～50才、平均年齢33.2才、男：女＝7：3）を対象とした。なお患者と性、年齢の合致した健常者を対照群とした（表1）。

3. 抗原抽出法

各患者の自家塵を採取し八倉の方法⁷⁾に従って抗原を抽出した。一部の試験においては市販抗原液を用いた。

4. 鼻汁採取法

家塵アレルギー性鼻炎患者，対照健常者から鼻粘膜を約50℃の蒸気を噴霧して熱刺激するこ

とにより採取した。

5. 脱顆粒現象の観察

既に報告したアレルギー性鼻炎のアレルゲン診断法に準じて行った²⁾。実験に使用した slide glass, cover glass は石けん水で充分洗浄し，流水で10～20分洗浄後，2.2M 濃度に sodium hydroxide を溶解した alcohol 液中

表1 アレルギー性鼻炎患者の一覧

症例No.	氏名	性別	年齢(年)	抗原	罹患年数(年)	誘発試験*	皮膚反応**	RAST (Score)	I g E (I U/ml)	合併症	重症度***
1	I. M.	男	50	ハウスダスト	6	++++	32x30/71x68	4	1110	(-)	+++
2	H. H.	男	35	ハウスダスト	7	++++	30x29/70x65	4	985	(-)	+++
3	T. M.	男	30	ハウスダスト	5	++	20x18/41x40	3	617	(-)	+++
4	T. T.	女	18	ハウスダスト	8	++	16x14/32x28	3	630	(-)	+++
5	U. T.	女	34	ハウスダスト	6	+++	17x17/30x30	4	1340	(-)	+++
6	T. Y.	女	21	ハウスダスト	5	++	10x8/21x20	3	580	(-)	+++
7	T. K.	男	42	ハウスダスト	12	+++	12x10/47x45	4	1170	(-)	+++
8	T. K.	男	32	ハウスダスト	11	+++	24x21/67x60	4	1060	(-)	+++
9	J. O.	男	32	ハウスダスト	12	+++	22x20/54x48	4	870	(-)	+++
10	M. S.	男	38	ハウスダスト	19	+++	32x30/69x60	4	1052	(-)	+++

*八倉の方法により抽出した抗原液を使用

**八倉の方法により抽出した抗原液を使用 膨疹/紅斑

***奥田の基準により判定

MY-5116
化学名

isoamyl 5,6-dihydro-7,8-dimethyl-4,5-dioxo-4H-pyrano[3,2-c]quinoline-2-carboxylate

isoamyl 5,6-dihydro-7,8-dimethyl-4,5-dioxo-4H-pyrano[3,2-c]quinoline-2-carboxylate

MY-1250
血中

図1 MY-5116の化学構造式

に一昼夜以上浸し、再洗浄後、塩酸 alcohol に24時間浸し、水で洗浄、ether-alcohol で洗浄後貯蔵したものを使用した。上記の slide 両端にワセリンで土手を作製。鼻汁を滅菌綿棒で採取、slide 上で medium 199 に 0.005% の toluidine blue を溶解した溶液 (T.B. solution) 0.2~0.3ml を加え十分混和、cover glass をかけ wet chamber で 37°C、20 分間 incubation し、鼻汁中 metachromatic cell を染色、光学顕微鏡 (オリンパス光学) を用い metachromatic cell の性状を観察し、T.B. solution (pH=8~8.2) にて希釈した抗原抽出液を cover glass の一端より滅菌注射器を用いて注入、他方より濾紙 (東洋濾紙 No. 5) で吸引、液交換を行い wet chamber 内で 30 分間、37°C で incubation 後、光学顕微鏡にて metachromatic cell 中脱顆粒現象をおこした細胞を計測した (図 2)。この鏡検において、1 視野で約 30 個の metachromatic cell が観察されるので、10 視野を観察し脱顆粒率を算出

した。なお pH8~8.2 での染色による非特異的な metachromatic cell の脱顆粒については、同じ細胞を trypan blue を用いた cytotoxic test によって viable cell だけを取り出し、この viable cell 数によって補正し、非特異的な metachromatic cell の脱顆粒分を除外した。viable metachromatic cell の数は健康者の場合には少ないが家塵アレルギー性鼻炎患者は 1 視野平均約 30 個認められた。また、T.B. solution で適切な濃度に希釈した a-IgA, a-IgD, a-IgE, a-IgG, a-IgM, a- λ , a- κ , 市販抗原、および抽出抗原の 0.2~0.25ml を T.B. solution に溶解し注入することにより細胞を刺激した。compound 48/80 は 0.01~0.1 μ g/ml の範囲で T.B. solution に溶解し同様にして用いた。また T.B. solution を陰性対照として用いた。

6. 抗ヒト免疫グロブリン Y 抗体 (以下 a-Ig) の papain 分解

各種クラス a-Ig を papain で分解し Fab,

図 2 脱顆粒現象の観察手技

図3 アレルギー性鼻炎患者鼻汁中 metachromatic cell よりの各種 anti-Ig, a-λ, a-κ による脱顆粒効果

図4 アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の metachromatic cell の IgE による脱顆粒データは10症例の平均値±S Dで表示

○··○; T.B. solution,
 ●—●; anti-IgE,
 △··△; anti-IgE+MY-1250 (1μg/ml)

Fc fragment に分画し, Fab 分画を affinity chromatography で精製した⁵⁾.

7. MY-1250 の作用検討

MY-1250 は T.B. solution に溶解し (最終濃度 $10^{-9} \sim 10^{-6}$ g/ml). 市販抗原, 抽出抗原, compound 48/80 あるいは a-IgE 添加 20 分前より添加 20 分後に加え, metachromatic cell よりの脱顆粒現象に及ぼす影響について検討した.

8. cytotoxic test

T.B. solution が 0.1% 以上の場合 cytotoxic に metachromatic cell は脱顆粒現象を生ずるため trypan blue を用い viability を検索した. なお, viability は $91.7 \pm 4.8\%$ であった. 結果は viability により補正した.

9. 生化学的分析

抗原抽出液中蛋白質分析は bovine serum albumin を標準とし, Lowry 法⁸⁾ により測定した.

結 果

1. 各種 a-Ig 刺激による metachromatic cell よりの脱顆粒現象

鼻汁中 metachromatic cell よりの脱顆粒現象が抗原特異的な IgE クラス抗体に特異性を有するか否かを検討するため, 各種クラス a-Ig で metachromatic cell を刺激した. アレルギー性鼻炎患者 10 名における a-Ig 刺激による脱顆粒現象を平均値 $\pm$ 標準偏差 (%) であらわした. a-IgE 刺激時 $85.4 \pm 11.9\%$ の脱顆粒現象を認めたが a-IgA, a-IgD, a-IgG, a-IgM, a- κ , a- λ の刺激では陰性対照群 (a-Ig (-)) と何ら有意差を示さなかった (図 3). また, 至適刺激 a-IgE 濃度は $10^{-11} \sim 5 \times 10^{-11}$ g/ml であった (図 4). この脱顆粒現象は a-IgE Fab fragment による刺激あるいは 2 次刺激として 1 価抗体の a-Fab を作用させても生じず, 2 価抗体である a-(Fab)₂ ではじめて脱顆粒現象が生じた (図 5).

2. 市販抗原, 抽出抗原, compound 48/80 刺激による metachromatic cell よりの脱顆

粒

アレルギー性鼻炎患者 10 名に於いて, 市販家塵抗原 (鳥居薬品) を 1 : 50 ~ 1 : 1000 倍に希釈し metachromatic cell を刺激した. 陰性対照として T.B. solution を添加した場合 $5.2 \pm 3.4\%$ の脱顆粒が認められ, 家塵抗原濃度が高濃度となるに従い脱顆粒現象が増加し, 1 : 50 の希釈自家塵抗原では $70 \pm 11\%$ の脱顆粒が認められた (図 6). また, 八倉の方法⁷⁾ で抽出したアレルゲン抽出液で metachromatic cell を刺激した場合, アレルゲン抽出液蛋白濃度が $25 \mu\text{g/ml}$ の場合最大の脱顆粒現象が認められた (図 7). 一方, compound 48/80 を用いた場合には $0.05 \mu\text{g/ml}$ 添加時に最大の脱顆粒現象が認められた (図 8).

図 5 metachromatic cell の脱顆粒における IgE の架橋
一次刺激は抗 IgE ヤギ抗体あるいはヤギ抗 IgE Fab fragment 抗体を使用 (10^{-11} g/ml)
二次刺激はウサギ抗ヤギ IgG (Fab') 抗体あるいはウサギ抗ヤギ IgG (Fab')₂ 抗体を使用 (10^{-11} g/ml)
データは 10 症例平均値 $\pm$ S D で表示

3. 各種刺激による metachromatic cell よりの脱顆粒現象に及ぼす MY-1250 の影響

metachromatic cell を a-IgE で刺激した場合アレルギー性鼻炎患者の metachromatic cell よりの脱顆粒現象は $83.9 \pm 11.4\%$ で、健常者の $6.8 \pm 5.2\%$ に比較して高値を示した (図9). 一方, a-IgE 刺激20分前に MY-1250 $10^{-9} \sim 10^{-6} \text{g/ml}$ を添加した場合, 非添加時の $82.7 \pm 11.7\%$ に比し, MY-1250 10^{-6}g/ml , 10^{-5}g/ml 添加時にはそれぞれ $21.2 \pm 8.7\%$, $20.6 \pm 7.7\%$ と脱顆粒抑制を認め, MY-1250 添加濃度が低下するにつれて MY-1250 の脱顆粒抑制作用の低下を認めた (図10). すなわち MY-1250 は 10^{-6}g/ml で metachromatic cells よりの抗原刺激による脱顆粒現象を最大限に抑

制した. また, MY-1250 は a-IgE 添加より少なくとも5分前に前添加されることが脱顆粒抑制に必要で, a-IgE 添加後に 10^{-6}g/ml の MY-1250 を添加しても脱顆粒の抑制は認められなかった (図11).

さらに, 家塵誘発アレルギー性鼻炎患者に対し市販家塵抗原, 抽出抗原液あるいは compound 48/80 で刺激する際も, 刺激20分前に MY-1250 の 10^{-6}g/ml を添加した場合に metachromatic cells よりの脱顆粒現象の抑制が認められた (図6, 7, 8).

考 察

アレルギー患者鼻汁より得た nasal smear 中の chemical mediator を遊離する好塩基球, 肥満細胞 (metachromatic cell と総称

図6 アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の metachromatic cell の市販自家塵抗原による脱顆粒

データは10症例の平均値±SDで表示

●—●; 市販自家塵抗原

△…△; 市販自家塵抗原+MY-1250 (10^{-6}g/ml)

○…○; T.B. solution のみ

する)を染色し、これを抗原で刺激し脱顆粒現象を光学顕微鏡で観察することにより鼻アレルギー患者に於ける起因抗原を direct に同定する方法については既に報告した²⁾。

アレルギー性鼻炎が抗原と好塩基球あるいは肥満細胞膜表面上レセプターに結合した抗原特異的 IgE クラス抗体と結合し、IgE クラス抗体を架橋することにより chemical mediator を遊離することはよく知られている¹⁾。本法においても metachromatic cell よりの脱顆粒現象は IgE クラス抗体が架橋されないと生じないことを明らかにした。すなわち a-IgE 刺激では脱顆粒が生じるが(図3, 4), a-IgE を monovalent な a-IgE Fab fragment にした場合脱顆粒が生じないこと、これを抗ヤギ

a-IgE Fab IgG ウサギ抗体で2次刺激しても脱顆粒は生じないが抗ヤギ a-IgE (Fab)₂IgG ウサギ抗体で2次的に架橋をおこさせると脱顆粒が生じることなどから、脱顆粒には IgE クラス抗体の架橋が必要であるものと考えられる(図5)。このような架橋の必要性は我々が先にウサギB細胞を a-Ig とT細胞由来の可溶性因子で刺激し IgG 抗体を産生する系で、B細胞へ signal を与えるにはB細胞表面の Ig レセプターの架橋が必須であることを報告したこと⁹⁾とも一致する。これらの結果より本法における metachromatic cell よりの脱顆粒は IgE 抗体の架橋により生じる chemical mediator 遊離に相当する現象を観察しているものと考えられる。さらに、a-IgE 以外の a-I

図7 アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の metachromatic cell のアレルゲン抽出液(八倉の方法による)による脱顆粒
データは10症例の平均値±SDで表示
●—●; アレルゲン抽出液
△…△; アレルゲン抽出液+MY-1250 (10⁻⁶g/ml)
○…○; T.B. solution のみ

や α - κ , α - λ で刺激しても脱顆粒の生じないこと、すなわち α -IgE 刺激では $85.4 \pm 11.9\%$ の脱顆粒が認められるのに対し他刺激では control と脱顆粒に有意差を生じないことより、本法がⅠ型アレルギー反応における好塩基球、肥満細胞よりの chemical mediator 遊離を観察していることが示唆された(図3). アレルギー性鼻炎反応の場に関し今日粘膜粘液層、上皮層の2ヶ所が想定されているが、鼻粘膜を覆う粘液層には起因抗原に対する特異 IgE クラス抗体が存在することおよび IgE の標的細胞である好塩基球が存在することが証明されている。したがって、吸入された抗原が粘膜粘液層に落ち、その水溶性成分が抗原とし粘液内層好塩基球細胞膜表面レセプターに固着した IgE 抗体と反応し、その結果好塩基球より

chemical mediator が遊離され、アレルギー性鼻炎発作が誘発されることは当然考えられることである。本法は鼻粘液層中の鼻汁中好塩基球あるいは肥満細胞(染色法より metachromatic cell とここでは表現した)を抗原で刺激し、脱顆粒現象を観察することにより鼻粘膜表層で生じている起因抗原と抗原特異的クラス抗体が付着した好塩基球、肥満細胞の反応を in vitro で観察していることになるので、直接的なアレルギー性鼻炎抗原探索法のひとつと考えられる。

健常者を抗原刺激しても脱顆粒 ($6.5 \pm 5.2\%$) が生じず、アレルギー性鼻炎患者を α -IgE で刺激した場合脱顆粒現象が生じる ($83.9 \pm 11.4\%$) という結果(図9)もこの考え方を支持し、本法が皮内反応、RASTと同様にア

図8 アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の metachromatic cell の compound 48/80 による脱顆粒

データは10症例の平均値±SDで表示

●—●; compound 48/80

△---△; compound 48/80 + MY-1250 (10^{-6} g/ml)

○---○; T.B. solution

図9 アレルギー性鼻炎患者と健常人の鼻汁中 metachromatic cell の抗 IgE (10^{-11} g/ml) による脱顆粒の比較
データはそれぞれ10症例の平均値±SDで表示

アレルギー性鼻炎患者の抗原探索に適した方法であることを示唆している。

今回の実験において、アレルギー性鼻炎患者の metachromatic cell は $0.05\mu\text{g/ml}$ 濃度の compound 48/80の添加により約90%の脱顆粒を示した(図8)。ヒトの basophile は compound 48/80に対し反応しないという報告もみられる。一方, Shioda ら¹⁰⁾は食餌アレルギー患者の鼻汁中 metachromatic cell は $10\mu\text{g/ml}$ 濃度の compound 48/80によりほとんどの細胞が脱顆粒することを報告した。ヒトの metachromatic cell が compound 48/80に反応しやすいか否かは患者の疾患の状態や実験の条件により異なると思われるが、今回のアレルギー性鼻炎患者の metachromatic cell は compound 48/80に良く反応した。

本法はアレルギー性鼻炎の薬効判定、その作

図10 アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の metachromatic cell の抗 IgE による脱顆粒に及ぼすMY-1250の効果
抗IgE (10^{-11} g/ml) による刺激の20分前にMY-1250を添加,
データは10症例の平均値±SDで表示
●—● ; +MY-1250
○---○ ; T.B. solution のみ

用機序の検討にも有用であると考えられ、トラニラスト (N-5')¹¹⁾ および黄芩の主成分である baicalein-6-phosphate trisodium¹²⁾¹³⁾ についてその有用性を報告してきた。

今回新たに開発された抗アレルギー剤MY-5116の生体内の主薬効物質である MY-1250 においても a-IgE あるいは家塵抗原抽出液刺激による自家塵アレルギー性鼻炎患者鼻汁中の

図11 抗 IgE (10^{-11} g/ml) による脱顆粒に及ぼすMY-1250 (10^{-6} g/ml) の添加時期の影響
データは10症例の平均値 $\pm$ SDで表示
●—●; +MY-1250
○---○; T.B. solution のみ

図12 MY-1250の作用機序についての作業仮説

metachromatic cell よりの脱顆粒現象の抑制効果がみられた (図4, 6, 7, 11). MY-1250 の metachromatic cell よりの各種刺激による脱顆粒現象の抑制効果は各種刺激剤添加前に MY-1250 が metachromatic cell と接触していることが重要であることが示された. 図11に示す如く, MY-5116 (MY-1250) は a-IgE 投与前あるいは投与と同時に添加させると有効であるが, 抗原投与10分後の添加では無効であることから chemical mediator の遊離を予防的に抑制するものと推察される.

また, アレルギー性鼻炎患者下鼻甲介粘膜片を用いた in vitro での $^{45}\text{Ca}^{51}$ ion の取り込み増大, histamine をはじめとする chemical mediator の遊離作用に対しても MY-1250 が baicalein-6-phosphate trisodium¹²⁾ と同様有効なこと, また I 型アレルギー性鼻炎患者末梢血由来好塩基球を用いた histamine, SRS-A 遊離およびヒト由来 basophilic leukemia cells よりの chemical mediator 遊離にも有効なこと (以上, 投稿予定) より MY-5116 (MY-1250) はアレルギー性鼻炎の好塩基球, 肥満細胞よりの chemical mediator 遊離抑制薬として有用なことが示唆された. この結果は MY-5116 を用いた動物実験³⁾, ヒト気管支喘息における MY-5116 の予防効果の成績⁴⁾ と一致するものと考えられる.

近年 basophile や mast cell からの chemical mediator 遊離や脱顆粒に関する細胞内の作用機序が詳細に検討されつつあり, いくつかの仮説や模式図が提唱されている. Sagi-Eisenberg¹⁴⁾ や Theoharide ら¹⁵⁾ は抗アレルギー薬の chemical mediator 遊離抑制作用が分子量78Kの蛋白質のリン酸化と関連する可能性を提唱した. また今回実験に用いた MY-5116 (MY-1250) も蛋白質のリン酸化と関連するとされる (私信).

これらの報告と今回の実験結果を総合すると図12の如き仮説が想定される. この仮説に基づいてより詳細な MY-5116 の分子生物学的作用

機序に関して検討を試みようと考えている.

謝辞 本研究を行うにあたり, 研究の助手をして下さいました藤沢祐子嬢及び MY-1250 のバルクを供与たまわりました三菱化成工業株式会社に心より感謝致します. また種々のアドバイスを賜りました大阪大学第3内科故八倉隆保助教授に深謝致します.

参考文献

- 1) 富岡政夫: アレルギー性メディエーター遊離におけるフィードバック機構. 代謝 17: 2041~2065, 1980.
- 2) 西澤芳男: 新たなアレルギー性鼻炎抗原同定法. 耳鼻臨床 77: 483~494, 1984.
- 3) 高橋和雄, 他: MY-5116 の PCA 抑制および histamine 遊離に及ぼす影響. 日薬理誌 87: 29~39, 1986.
- 4) 宮本昭正, 他: 新規抗アレルギー薬 MY-5116 の成人気管支喘息に対する臨床評価. 診療と新薬 23: 251~276, 1986.
- 5) 西澤芳男, 岸本忠三: Radioimmunoassay による抗 DNP, IgG, IgA, IgM 抗体, 全 IgG, IgA, IgM 量の測定, 免疫実験操作法. 1089~1093 頁, 1975.
- 6) 奥田 稔: 鼻アレルギー診療の実際 (3版). 金原書店, 1976, 東京.
- 7) 八倉隆保: 皮膚反応. 免疫化学 (右田俊介編). 中山書店, 東京, 402~412頁, 1972.
- 8) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265~275, 1951.
- 9) 西澤芳男, 岸本忠三: 抗体産生の分子生物学. 生体の科学 30: 456~469, 1979.
- 10) Shioda H, Mishima T, Yamada S, et al: Nasal Smears in the diagnosis of food allergy. The mast cell (ed by Pepys J and Edwards AM). Isted Pitman Medical Publishing. Kent, 1979.
- 11) 西澤芳男: N-5' の臨床例 I 型アレルギー性鼻炎に対する (N-3,4 dimethoxy cinnamoyl) anthranilic acid (N-5') の効果 II 自家塵誘発 I 型アレルギー性鼻炎患者の臨床症状改善に及ぼす N-5' の効果. 耳喉 55: 2175~2187, 1983.

- 12) 西澤芳男：黄芩主成分 Baicalein によるアレルギー性鼻炎患者鼻汁中 metachromatic cells のアレルギー, compound 48/80, ヤギ抗ヒト IgE 抗体刺激による脱顆粒現象の抑制効果の検討. 耳鼻臨床 77: 2036~2037, 1984.
- 13) 西澤芳男：アレルギー性鼻炎患者下鼻甲粘膜の in vitro における histamine 遊離に対する黄芩の抑制効果. 耳鼻臨床 78: 2250, 1985.
- 14) Sagi-Eisenberg R: Possible role for a calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase, TIPS-May 188~200, 1985.
- 15) Theoharides T, Sieghart W, Greengard P, et al: Science 207: 4~4, 1980.

（原稿採扱：昭和62年7月31日
別刷請求先：西澤芳男
〒560 豊中市北桜塚3-2-13
真正会病院アレルギー科）