Calcipotriol (MC903) の抗原性試験

鈴木登志郎, 加藤 利博, 北垣 忠温,
小野 正博*, 白川 清美*, 永田 充宏*, 小西 良士*

株式会社 日本セイギケン総合研究所

〒433 静岡県浜松市葵町95-10

*帝國製薬株式会社 研究開発本部

〒769-26 香川県大川郡大内町三本松567番地

AN ANTIGENICITY STUDY OF CALCIPOTRIOL (MC903)

Toshiro SUZUKI, Toshihiro KATO, Tadaharu KITAGAKI,
Masahiro ONO*, Kiyomi SHIRAKAWA*, Mitsuhiro NAGATA*
and Ryoji KONISHI*

Japan Seigiken Research Center Co., Ltd.,

95-10 Aoi-cho, Hamamatsu, Shizuoka 433, Japan

**Research and Development Division, Teikoku Seiyaku Co., Ltd.,*

567 Sanbonmatsu, Ochi-cho, Ohkawa-gun, Kagawa 769-26, Japan

(Received November 7, 1995 ; Accepted March 8, 1996)

ABSTRACT — Antigenicity of calcipotriol (MC903), an anti-psoriatic agent, was investigated in mice and guinea-pigs.

1. In mice, MC903 administered alone or with an adjuvant (Alum) did not result in the production of MC903-specific IgE antibody.

2. In guinea-pigs sensitized with MC903 alone or plus an adjuvant (FCA), systemic anaphylaxis was not induced by challenging with MC903. IgG1 antibody in MC903-sensitized guinea-pigs was not detected by the 4-hr PCA test.

3. Ovalbumin induced the production of ovalbumin-specific IgE antibody in mice, and ovalbumin-specific IgG1 antibody in guinea-pigs. Intense systemic anaphylaxis in the ovalbumin-sensitized guinea-pigs was induced by challenging with ovalbumin.

4. Results obtained in the present study suggest that MC903 does not induce the production of IgE antibody in mouse, and IgG1 antibody in guinea-pig, and in MC903-sensitized guinea-pig systemic anaphylaxis is not induced by challenging with MC903.

KEY WORDS : Anti-psoriatic agent, Calcipotriol, MC903, Antigenicity study, Mouse, Guinea-pigs

連絡先：〒769-26 香川県大川郡大内町三本松567番地
帝國製薬株式会社 研究開発本部
小野 正博

緒 言

Calcipotriol (以下, MC903 と略す) は, Leo Pharmaceutical Products Ltd. (Denmark) で開発された新規乾癬治療剤である。本剤はビタミン D₃ の活性本体である 1 α ,25(OH)₂D₃ の類縁化合物であり, 表皮細胞に対する細胞増殖抑制作用および分化誘導作用を有し, カルシウム代謝に及ぼす作用は活性型ビタミン D₃ の 1/100~1/200 と報告されている (Binderup and Bramm, 1988)。欧米では本剤の 50 μ g/g 濃度の軟膏が臨床適用されており, 本邦においても安全な乾癬治療剤として有用性が期待されている。

今回, 著者らは MC903 の安全性評価の一環として, マウスおよびモルモットを用いた抗原性試験を実施したので報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質

本試験には, Lot No. 9103-019. (純度: 97.1%) の MC903 を使用した。

MC903 は, 化学名を (+)-(5Z,7E,22E,24S)-24-cyclopropyl-9,10-secochole-5,7,10,(19),22-tetraene-1 α ,3 β ,24-triol と称し, 分子量 412.61 で, エタノールに溶けやすく, クロロホルムおよびプロピレングリコールにやや溶けやすく, 水および流動パラフィンにはほとんど溶けない白色の結晶性粉末である。MC903 の化学構造式を Fig. 1 に示した。

2. 試 薬

陽性対照物質として, ovalbumin (以下, OVA と略す: Sigma Chemical Company, grade V, Lot No. 40H8060) を使用した。その他に, 溶媒としてプロピレングリコール(以下, PG と略す: 関東化学(株)), エタノール(以下, EtOH と略す: 関東化学(株)), 日本薬局方注射用蒸留水(以下, 注射用水と略す: (株)大塚製薬工場)および日本薬局方生理食塩液(以下, 生理食塩液と略す: (株)大塚製薬工場)を使用した。アジュバントとして, aluminium hydroxide gel (以下, Alum と略す: (株)日本セイギケン総合研究所に

Fig. 1. Chemical structure of calcipotriol.

て調製, 20 mg/ml) および Freund's Complete Adjuvant (以下, FCA と略す: Difco Laboratories) を使用した。PCA 反応用色素として Evans blue (E. Merck) を使用した。

3. 使用動物および飼育条件

感作用動物として, 8 週齢の BALB/c Cr Slc 系雄性マウスおよび 3 週齢の Slc: Hartley 系雄性モルモットを, PCA 用動物として, 9 週齢の Slc: SD 系雄性ラットおよび 9 週齢の Slc: Hartley 系雌性モルモットを日本エスエルシー(株)より購入した。いずれも 1 週間以上予備飼育し, 健康状態の良好な動物を試験に用いた。なお, 感作開始時の体重は, BALB/c Cr Slc 系雄性マウス 23.6~26.6 g, Slc: Hartley 系雄性モルモット 286.2~351.1 g であった。

予備飼育および試験期間を通して, マウスおよびラットは, 温度 23 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C および湿度 50 $\pm$ 15% に設定されたバリアー施設内で, 感作用モルモットは, 温度 23 $\pm$ 3 $^{\circ}$ C および湿度 50 $\pm$ 15% に設定されたセミバリアー施設内で, PCA 用モルモットは, 温度 24 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C および湿度 50 $\pm$ 10% に設定されたバリアー施設内で飼育した。これらの飼育室は, 換気回数約 16 回/時間, 12 時間照明 (7:00~19:00) に設定されている。マウスは, アルミ製床平板ケージ (18 W $\times$ 32 D $\times$ 11 H (cm)) に 5 匹ずつ, ラットおよび

予備飼育期間中の感作用モルモットならびに PCA 用モルモットは、網底・尿皿付きのステンレススチール製網ケージ (40 W × 47 D × 24 H (cm)) に 3 匹ずつ、群分け後の感作用モルモットは、網底自動洗浄アルミニウム製ケージ (40 W × 47 D × 24 H (cm)) に 3 匹ずつ収容した。これらの動物には、放射線照射滅菌された固型飼料 (マウスおよびラット: FR-2, (株)船橋農場, モルモット: ラボ G スタンドード, 日本農産工業(株)) および塩素消毒された井戸水を自由に摂取させた。

4. マウスを用いた抗原性試験 (荻田ら, 1977; 水島, 1980)

1) マウスの感作および試験群の構成

マウスの感作は、MC903 の単独皮下投与および MC903 と Alum との併用による腹腔内投与により実施した。すなわち、各群 10 匹の 4 群構成とし、MC903 の 0.375 (ほぼ予定臨床用量に相当) および 3.75 $\mu\text{g}/\text{animal}$ (予定臨床用量のほぼ 10 倍に相当) をそれぞれ投与容量 0.03 ml/animal で、隔日に週 3 回、計 12 回皮下に投与する群と、MC903 の 3.75 $\mu\text{g}/\text{animal}$ および OVA の 10 $\mu\text{g}/\text{animal}$ をそれぞれ Alum とともに投与容量 0.13 ml/animal および 0.2 ml/animal で 2 週間に 1 回、計 3 回腹腔内に投与する群を設定した。

2) 感作抗原液の調製

EtOH を用いて、0.375 $\mu\text{g}/0.01\text{ ml}$ および 3.75 $\mu\text{g}/0.01\text{ ml}$ 濃度の MC903 保存液を調製した。MC903 単独感作群の感作抗原液として、各 MC903 保存液と PG と注射用水との等量混合液を調製した。Alum 併用感作群の MC903 感作抗原液として、上記と同様に調製した MC903 の 3.75 $\mu\text{g}/0.03\text{ ml}$ 溶液と Alum との混合液 (3:10) を調製した。OVA 感作抗原液として、生理食塩液を用いて OVA を 10 $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$ の濃度に溶解後、その溶液と Alum との等量混合液を調製した。なお、いずれも感作時に用時調製した。

3) 採 血

最終感作の 14 日後に、眼球摘出法により全採血し、個体別に分離した血清を PCA 反応供試時まで凍結保存 (約 -70°C) した。

4) PCA 反応 (Ovary, 1958; Mota *et al.*, 1969)

(1) 血清の皮内感作

MC903 単独感作血清および MC903 + Alum 感作血清については、生理食塩液で 5 倍に希釈した血清を、OVA + Alum 感作血清については、生理食塩液で 20, 60, 180, 540 および 1620 倍に希釈した血清を、いずれも 0.05 ml/site ずつ、電気バリカンであらかじめ剪毛した無処置ラットの背部に皮内注射した。

(2) 惹起抗原液の調製

MC903 単独および MC903 + Alum 感作血清の受身感作ラットについては、MC903 の 52.5 $\mu\text{g}/0.2\text{ ml}$ EtOH 溶液と PG と 5% Evans blue 溶液との等量混合液を、また、OVA + Alum 感作血清の受身感作ラットについては、OVA の生理食塩液を用いた 2 mg/ml 濃度の溶液と、2% Evans blue 生理食塩液溶液との等量混合液をそれぞれの惹起抗原液とした。なお、いずれも惹起時に用時調製した。

(3) 惹起方法

感作血清のラットへの皮内感作から約 24 時間後に、各惹起抗原液 (MC903 抗原液: 0.6 ml/animal, OVA 抗原液: 1 ml/animal) をそれぞれの受身感作ラットの尾静脈内に投与し、PCA 反応を惹起した。惹起 30 分後にラットを放血致死させ、背部皮膚を剝離した後、出現した青色斑の長径および短径を測定し、その長径と短径の平均値が 5 mm 以上のものを陽性として、陽性を示した最大希釈倍数を PCA 抗体価とした。なお、1 感作血清について、2 匹のラットを用いて PCA 反応を実施し、2 匹のラットでその最大希釈倍数の値が異なる場合は、より高い希釈倍数をその血清の抗体価とした。

5. モルモットを用いた抗原性試験 (荻田ら, 1977; 鈴田, 1969)

1) モルモットの感作および試験群の構成

モルモットの感作は、MC903 の単独皮下投与および MC903 と FCA との併用による皮下投与により実施した。すなわち、MC903 の 5.25 (ほぼ予定臨床用量に相当) および 52.5 $\mu\text{g}/\text{animal}$ (予定臨床用量のほぼ 10 倍に相当) を投与容量 0.3 ml/animal で、隔日に週 3 回、計 12 回皮下に投与する群と、

MC903 の52.5 $\mu\text{g}/\text{animal}$ を FCA とともに投与容量 0.7 ml/animal で4週間に1回、計2回皮下に投与する群の3群（各群9匹）およびOVAの1 mg/animal を FCA とともに投与容量0.6 ml/animal で4週間に1回、計2回皮下に投与する陽性対照群（6匹）の計4群を設定した。

2) 感作抗原液の調製

EtOH を用いて、5.25 $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$ および52.5 $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$ 濃度の MC903 保存液を調製した。MC903 単独感作群の感作抗原液として、各 MC903 保存液と PG と注射用水との等量混合液を調製した。FCA 併用感作群の MC903 感作抗原液として、FCA と注射用水との等量混合エマルジョンと MC903 保存液（52.5 $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$ ）とを6:1の割合で混合しエマルジョンを調製した。OVA 感作抗原液として、生理食塩液を用いて OVA を1 mg/0.3 ml の濃度に溶解後、その溶液と FCA との等量混合エマルジョンを調製した。なお、いずれも感作時に用時調製した。

3) 採 血

最終感作の12もしくは13日後に眼窩静脈叢より採血し、個体別に分離した血清を PCA 反応供試時まで凍結保存（約 -70°C ）した。

4) PCA 反応（Ovary, 1958）

(1) 血清の皮内感作

MC903 単独感作血清および MC903 + FCA 感作血清については生理食塩液で10倍に希釈した血清を、OVA + FCA 感作血清については生理食塩液で2000, 4000, 8000, 16000および32000倍に希釈した血清を、いずれも0.1 ml/site ずつ、電気バリカンであらかじめ剪毛した無処置モルモットの背部に皮内注射した。

(2) 惹起抗原液の調製

MC903 単独および MC903 + FCA 感作血清の受身感作モルモットについては、MC903 の75 $\mu\text{g}/0.2\text{ ml}$ EtOH 溶液と PG と5% Evans blue 溶液との等量混合液を、また、OVA + FCA 感作血清の受身感作モルモットについては、OVA の生理食塩液を用いた2 mg/ml 濃度の溶液と2% Evans blue 生理食塩液溶液との等量混合液をそれぞれの惹起抗原液とした。なお、いずれも惹起時に用時調製した。

(3) 惹起方法

感作血清のモルモットへの皮内感作から約4時間後に、各惹起抗原液（MC903 抗原液：0.6 ml/animal, OVA 抗原液：1 ml/animal）をそれぞれの受身感作モルモットに静脈内投与し、PCA 反応を惹起した。惹起30分後にモルモットを放血致死させ、背部皮膚を剥離した後、出現した青色斑の長径および短径を測定し、その長径と短径の平均値が5 mm 以上のものを陽性として、陽性を示した最大希釈倍数を PCA 抗体価とした。なお、1感作血清について、2匹のモルモットを用いて PCA 反応を実施し、2匹のモルモットでその最大希釈倍数の値が異なる場合は、より高い希釈倍数をその血清の抗体価とした。

5) 能動性全身アナフィラキシー反応（島田ら, 1989; 鈴田, 1969）

(1) 惹起抗原液の調製

MC903 単独および MC903 + FCA 感作モルモットについては、MC903 を EtOH で75 $\mu\text{g}/0.2\text{ ml}$ の濃度に、OVA + FCA 感作モルモットについては、OVA を生理食塩液を用いて5 mg/0.2 ml の濃度に溶解し、それぞれの惹起抗原液とした。なお、いずれも惹起時に用時調製した。

(2) 能動性全身アナフィラキシー反応

最終感作の14もしくは15日後に、各惹起抗原液をそれぞれの感作モルモットに投与容量0.2 ml/animal を静脈内投与し、全身の症状（落ち着きがない、掻鼻、ふるえ、咳、呼吸困難、転倒、死亡等）を15分間観察した。

なお、試験実施に先立ち、無処置モルモットに MC903 惹起抗原液を投与したところ、軽度の“ふるえ”が観察された。

実験結果

1. マウスを用いた試験

PCA 反応の結果を Table 1 に示した。

MC903 (0.375および3.75 $\mu\text{g}/\text{animal}$) 感作血清および MC903 (3.75 $\mu\text{g}/\text{animal}$) + Alum 感作血清について MC903 で反応を惹起したところ、いずれにおいても陽性反応は認められなかった。一方、陽性対

照である OVA (10 $\mu\text{g}/\text{animal}$) + Alum 感作血清について OVA で反応を惹起した場合には、全例が明らかな陽性反応を示し、その PCA 抗体価は540~1620倍であった。

2. モルモットを用いた試験

1) PCA 反応

PCA 反応の結果を Table 2 に示した。

MC903 (5.25 および 52.5 $\mu\text{g}/\text{animal}$) 感作血清および MC903 (52.5 $\mu\text{g}/\text{animal}$) + FCA 感作血清について MC903 で反応を惹起したところ、いずれの血清においても陽性反応は認められなかった。一方、陽性対照である OVA (1 mg/animal) + FCA 感作血清について OVA で反応を惹起した場合には、全例が明らかな陽性反応を示し、その PCA 抗体価は32000倍であった。

2) 能動性全身アナフィラキシー反応

能動性全身アナフィラキシー反応の結果を Table 3 に示した。

MC903 (5.25 $\mu\text{g}/\text{animal}$), MC903 (52.5 $\mu\text{g}/\text{animal}$) および MC903 (52.5 $\mu\text{g}/\text{animal}$) + FCA 感作群の各動物について、MC903 で能動性全身アナフィラキシー反応を惹起したところ、いずれの動物においても明らかなアナフィラキシー症状の発現は認められなかった。一方、陽性対照である OVA (1 mg/animal) + FCA 感作群の動物を OVA で反応惹起した場合には、全例に様々なアナフィラキシー症状が発現し、いずれの個体も惹起後15分以内に死亡した。なお、MC903 の各感作群において、各群のおよそ 1/3 例にきわめて軽度の“ふるえ”が観察された。

Table 1. Passive cutaneous anaphylaxis reaction in rats with sera obtained from mice sensitized with calcipotriol.

Sensitization		Challenge		No. of positive PCA	PCA titer
Antigen	Dose	Antigen	Dose		
Calcipotriol	0.375 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	0 / 10	<5
Calcipotriol	3.75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	0 / 10	<5
Calcipotriol + Alum	3.75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	0 / 10	<5
OVA + Alum	10 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	OVA	1 (mg/animal)	10 / 10	540 [5] 1620 [5]

Alum: Aluminium hydroxide gel, OVA: Ovalbumin.
[] : No. of mice.

Table 2. Passive cutaneous anaphylaxis reaction in guinea-pigs with sera obtained from guinea-pigs sensitized with calcipotriol.

Sensitization		Challenge		No. of positive PCA	PCA titer
Antigen	Dose	Antigen	Dose		
Calcipotriol	5.25 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	0 / 9	<10
Calcipotriol	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	0 / 9	<10
Calcipotriol + FCA	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	0 / 9	<10
OVA + FCA	1 (mg/animal)	OVA	1 (mg/animal)	6 / 6	32000 [6]

FCA: Freund's complete adjuvant, OVA: Ovalbumin.
[] : No. of guinea pigs.

Table 3. Active systemic anaphylaxis reaction in guinea-pigs sensitized with calcipotriol.

Sensitization		Challenge		No. of animals	Symptom						
Antigen	Dose	Antigen	Dose		A	B	C	D	E	F	G
Calcipotriol	5.25 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	9	0 ^{a)}	0	4	0	0	0	0
Calcipotriol	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	9	0	0	4	0	0	0	0
Calcipotriol+FCA	52.5 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	Calcipotriol	75 ($\mu\text{g}/\text{animal}$)	9	0	0	3	0	0	0	0
OVA+FCA	1 (mg/animal)	OVA	5 (mg/animal)	6	2	0	0	4	6	6	6

FCA: Freund's complete adjuvant, OVA: Ovalbumin.

^{a)} : No. of animals with positive symptom.

Symptom (A: Restlessness, B: Rubbing nose, C: Trembling, D: Coughing, E: Dyspnoea, F: Upset, G: Death).

考 察

$1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ がヘルパー T 細胞に対して免疫抑制作用を有することが報告されている (Lemire, 1985)。したがって、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の類縁化合物である MC903 がヘルパー T 細胞に対して免疫抑制的に作用し、抗体産生に対して抑制的に作用する可能性が考えられた。しかし、MC903 が免疫原性を有し、アレルギー性抗体を産生させる可能性も十分に考慮する必要があることから、産生されたアレルギー性抗体に対するアレルギー反応惹起性の有無を実験動物を用いて確認することは有意義であると考えられた。したがって、MC903 の免疫原性およびアレルギー反応惹起原性の検討のために、マウスおよびモルモットを用いた抗原性試験を実施した。

なお、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ が免疫抑制作用を有することから、本試験系の感度の低下が懸念された。しかし、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および MC903 には肥満細胞からの Chemical mediator 遊離抑制作用、Chemical mediator に対する拮抗作用等は報告されていないことから、本試験系の感度を低下させることはないものと考えられた。

マウスにおける抗原性試験では、臨床適用経路(経皮投与)を考慮して、皮下投与で単独感作する群と IgE 抗体産生誘導に有効とされている Alum (荻田ら, 1977) をアジュバントとして併用感作する群を設定した。すなわち、MC903 単独感作群では、MC903 の $0.375 \mu\text{g}/\text{animal}$ および $3.75 \mu\text{g}/\text{animal}$ の 2

用量を設け、それぞれ反復皮下感作した。Alum との併用感作に当っては、MC903 の $3.75 \mu\text{g}/\text{animal}$ を Alum と共に腹腔内に感作した。マウス IgE 抗体の検出を Slc: SD 系ラットを用いた 24 時間受身皮膚アナフィラキシー反応 (PCA 反応) により実施したところ、いずれの感作血清についても MC903 に対する抗体は検出されなかった。一方、陽性対照として用いた OVA 感作血清により明らかな PCA 反応が惹起された。このことから、OVA によりマウス IgE 抗体が産生されることが示されたが、MC903 にはこのような性質はないものと考えられた。

モルモットにおける抗原性試験においても、マウスと同様に皮下投与で単独感作する群と IgG1 抗体産生の誘導に有効とされている FCA (荻田ら, 1977) をアジュバントとして併用感作する群を設定した。すなわち、MC903 単独感作群では、MC903 の 5.25 および $52.5 \mu\text{g}/\text{animal}$ の 2 用量を設け、それぞれ反復皮下感作した。FCA との併用感作に当っては、MC903 の $52.5 \mu\text{g}/\text{animal}$ を FCA と共に皮下感作した。Slc: Hartley 系モルモットを用いた 4 時間 PCA 反応により IgG1 抗体の検出を実施したところ、いずれの感作血清についても MC903 に対する抗体は検出されなかった。一方、陽性対照として用いた OVA 感作血清により明らかな PCA 反応が惹起された。このことから、MC903 はモルモットに対し IgG1 抗体を産生させる性質はないものと考えられた。

各感作モルモットにおける能動性全身アナフィラ

キシー反応では、MC903で感作したいずれの動物においても、MC903による反応惹起に対して明らかなアナフィラキシー症状の発現は認められなかった。一方、陽性対照であるOVAで反応を惹起した場合には、全例に明らかなアナフィラキシー反応が観察された。なお、MC903の各感作群において軽度の“ふるえ”が認められたが、MC903惹起抗原液を投与した無処置モルモットに観察された“ふるえ”と同程度の“ふるえ”であることから、アナフィラキシー症状とは考え難かった。したがって、MC903はモルモットに対して能動性全身アナフィラキシー症状を発現させるような性質はないものと考えられた。

要 約

マウスおよびモルモットを用いてMC903の抗原性を検討し、以下の結果を得た。

1. MC903を単独あるいはAlumと共にマウスに感作したところ、MC903に特異的なIgE抗体は産生されなかった。

2. MC903を単独あるいはFCAと共にモルモットに感作したところ、MC903による反応惹起に起因した能動性全身アナフィラキシー症状の発現は観察されず、モルモット4時間PCA反応においてもMC903に特異的なIgG1抗体の産生は認められなかった。

3. 陽性対照として用いたOVAでは、OVA特異的なマウスIgE抗体およびモルモットIgG1抗体が産生され、強い能動性全身アナフィラキシー反応も観察された。

以上の結果から、本試験においては、MC903のマウスおよびモルモットへの感作によりI型アレルギーを引き起こす細胞親和性抗体(マウスIgEおよびモルモットIgG1)の産生およびモルモットにおける能動性全身アナフィラキシー症状の発現は認められなかった。

(試験期間：1991年6月～1991年11月)

文 献

- Binderup, L. and Bramm, E. (1988): Effects of a novel vitamin D analogue MC903 on cell proliferation and differentiation in vitro and on calcium metabolism in vivo. *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 889-895.
- Lemire, J. M. (1985): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J. Immunol.*, **134**, 3032-3035.
- 水島裕 (1980): 薬剤アレルギーの基礎的検討と臨床. *医学のあゆみ*, **112**, 8-15.
- Mota, I. and Wong, D. (1969): Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. *Life Sci.*, **8**, 813-820.
- 荻田忠厚, 水島裕 (1977): 薬物の抗原性の検討—とくにIgE型抗体産生検討のための動物モデルについて—. *医学のあゆみ*, **100**, 812-814.
- Ovary, Z. (1958): Immediate reactions in the skin of experimental animals provoked by antibody-antigen interactions. *Progy. Allergy*, **5**, 459-508.
- 島田典招, 竹本稔, 大曾根義泰, 他 (1989): Tazanolast (WP-833)の抗原性試験. *基礎と臨床*, **23**, 411-419.
- 鈴田達男 (1969): アレルギー実験法(1). *蛋白質・核酸・酵素*, **14**, 580-588.