

モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン塗布の

マウスに対する生体影響

中島孝江* 東恵美子*

化粧品等に使用されているモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween80) をアレルゲンと混合してマウスの耳に塗布した場合に、アレルゲンの経皮吸収を促進するか否かを、惹起後にアレルゲン特異的抗体価を測定して調べた。Tween80 濃度 1%以下では、アレルゲン特異的抗体の産生亢進はみられなかったが、5%以上では、アレルゲン特異的抗体の産生亢進がみられた。5%以上では、塗布 1 日後に耳に軽度の紅斑を示す刺激性が観察され、刺激反応がアレルゲンの経皮吸収を促進したと考えられた。

キーワード：マウス、アレルギー、Tween80、塗布、特異的抗体

key words : mouse, allergy, tween80, application, specific-antibody

近年、日本の全人口の約 2 人に 1 人が何らかのアレルギー疾患に罹患しており、罹患者数は急速に増加していると報告されている¹⁾。その原因として、急激に変化している環境要因が重要であると考えられている^{2,3)}。

一方、アレルゲンに対する特異的 IgE 抗体が陽性であることは、アレルギー疾患発症の危険因子と考えられている⁴⁾。しかし、1971 年以降に生まれた人の 88%がなんらかのアレルゲンに対する特異的 IgE 抗体が陽性であったのに対し、1971 年以前に生まれた人では 44%のみが陽性であったという報告⁵⁾がある。そのため、近年のアレルギー疾患罹患者の増加には、特異的 IgE 抗体陽性者の増加が関与している可能性があると考えられる。

生活環境中に存在している化学物質の種類と使用量が増加しており⁶⁾、これらの化学物質の中にアレルギー疾患に関与するものがあるのではないかと懸念される。平成 22 年には、実際に小麦由来成分を含んだ洗顔石けんの使用による小麦アレルギーの発症が報告⁷⁾された。

我々は、他にもアレルギー疾患に関与する化学物質があるのではないかと考え、これまでに、シャンプーに使

用されている陰イオン界面活性剤のラウレス硫酸ナトリウムを鼻から吸入した場合にアレルゲンによるアレルギー反応を増強するか否かを調べた。しかし、アレルゲンと同時にラウレス硫酸ナトリウムを吸入させたマウスでアレルギー症状を増悪させるような影響は見られなかった⁸⁾。

今回は、化粧品等に使用されている非イオン界面活性剤のモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン (Tween80) に注目した。

モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンは、ソルビトール及び無水ソルビトール (多価アルコール) の水酸基の一部を主としてオレイン酸でエステル化し、エチレンオキシド約 20 分子を縮合させたもので、安全性の高い非イオン界面活性剤として、Tween80 や Polysorbate80 という商品名で一般的に知られている。Tween80 は、低刺激性であるため軟膏剤や化粧品等皮膚に塗布する製品に広く使用されており、化粧品 (化粧水、乳液、クリーム) に乳化剤として 2~20%配合されている。医薬品での使用量は、一般外用剤 100 mg/g、経皮剤 (全身作用) 30 mg/g となっている⁹⁾。

今回、Tween80 をアレルゲンと混合して皮膚に塗布した場合のアレルギー反応への影響について検討した。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課
Effects of Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monooleate on Mice
by Applied to Skin
by Takae NAKAJIMA and Emiko AZUMA

実験方法

1. 試薬

アレルゲンとしては、SIGMA 製 卵白アルブミン Grade V (分子量 44,287) (OVA) を用い、Tween80 (分子量 1,300) は、和光純薬製 (化学用) を用いた。

2. 実験動物と飼育条件

BALB/c 雄マウス (SPF、日本エスエルシー、静岡) を 5 週齢で 50 匹購入し、10 群に分け、飼育ケージに 1 匹ずつ入れた。水は水道水を与え、餌は自由摂取させた。週に 1 回飼育ケージの交換を行い、体重の測定を行った。

3. 実験手順

実験手順を図 1 に示した。

マウスを 1 週間飼育環境に慣らした後、6 週齢で右側耳介背面に表 1 に示した試験溶液 20 μ l をワイドポアポリプロピレン製チップを用いてピペットで塗布した (感作)。1 日後に蒸留水を含ませたカット綿を用いて、擦らないようにして試験溶液を拭き取り、再度蒸留水を含ませたカット綿を交換して拭き取った。塗布の 2 週間後、右側耳介根部背面に 0.5%OVA を含んだ滅菌生理食塩水 20 μ l を皮内注射し (惹起)、その 2 週間後に検査を行った。検査項目は、耳介腫脹試験、臓器重量測定、右耳の病理組織学的観察、血清中 OVA 特異的抗体測定である。感作、惹起、検査は、ソムノペンチル麻酔薬腹腔内投与 (60mg/kg) により麻酔をして行った。また、実験期間を通じ、右耳皮膚の肉眼的観察を行った。

4. 実験群

実験群を表 1 に示した。

陰性対照は、感作時に蒸留水を塗布し、惹起時に生理食塩水を皮内注射する、感作も惹起も行わない DW-生食群、感作時に蒸留水を塗布し、惹起時に 0.5%OVA を皮内注射する、惹起のみ行う DW 群、感作時に OVA を塗布しないで 10%Tween80 のみを塗布し、惹起時に 0.5% OVA を皮内注射する 10TW 群の 3 群とした。

主となる実験群は、感作時に OVA のみを塗布する OVA 群 (対照)、感作時に OVA と混合して塗布する Tween80 の濃度が、0.5%の 0.5TWOVA 群、1%の 1TWOVA 群、5%の 5TWOVA 群、10%の 10TWOVA 群、20%の 20TWOVA 群とし、惹起時に 0.5%OVA を皮内注射した 6 群とした。

また、感作時に 0.5%OVA20 μ l を皮内注射し、惹起時に 0.5%OVA を皮内注射する、感作と惹起を確実にを行う OVA 投与群を陽性対照とした。計 10 群で各群 5 匹 (0.5TWOVA 群のみ 4 匹) で実験を行った。

表 1 実験群

実験群	試験溶液 (右耳に塗布) 感作 0日	惹起 2週間後 (右耳に皮内投与)
DW-生食 (陰性対照)	蒸留水20 μ l	生食20 μ l
DW (陰性対照)	蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
10TW (陰性対照)	10% Tween80 / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
OVA (対照)	2.5% OVA / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
0.5TWOVA	2.5% OVA・0.5% Tween80 / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
1TWOVA	2.5% OVA・1% Tween80 / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
5TWOVA	2.5% OVA・5% Tween80 / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
10TWOVA	2.5% OVA・10% Tween80 / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
20TWOVA	2.5% OVA・20% Tween80 / 蒸留水20 μ l	0.5% OVA / 生食20 μ l
OVA投与 (陽性対照)	0.5% OVA/生食20 μ l (皮内投与)	0.5% OVA / 生食20 μ l

5. 検査 (耳介腫脹試験、臓器重量) と採血

耳介の厚さは、左右の耳介の端部中央で DIAL THICKNESS GAUGE (PEACOCK G-1A)を用いて計測し、右側耳介厚/左側耳介厚を算出した。体重測定後、開腹、開胸して心臓から採血し、胸腺、脾臓、肝臓の重量測定を行った。各臓器重量から、それぞれ体重当たりの百分率を算出した。血液から血清を分離し、OVA 特異的抗体を測定するまで-80 $^{\circ}$ Cで保存した。

6. 右耳の病理組織学的観察

右耳を 10%中性緩衝ホルマリン液に入れ固定した。固定後、通常の病理組織標本作製法により、パラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン(HE) 染色と、トルイジンブルー(TB) 染色を行い、染色後、光学顕微鏡に

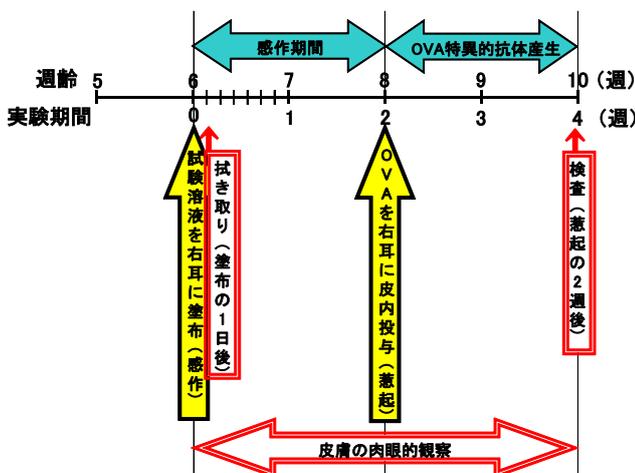


図 1 実験手順

よる観察を行った。耳介表皮厚は、HE 染色の顕微鏡写真で、塗布面の一番外側の角質層を除いた表皮の厚さをノギスで計測して求めた。マスト細胞数は、TB 染色標本により表皮の長さ 0.5 mm 当たりの数をカウントし、10 箇所での平均値を求めた。

7. OVA 特異的 IgE、OVA 特異的 IgG1 の測定

血清中の OVA 特異的 IgE は、抗-マウス IgE 抗体 (PHARMINGEN R35-72)、ビオチン化 OVA を用い、PCA タイター ×320 のマウスプール血清を標準として ELISA 法で測定¹⁰⁾した。

OVA 特異的 IgG1 は、HRP 標識した抗-マウス IgG1 抗体 (ZYM610120) を用い、抗卵白アルブミン マウス モノクローナル抗体 (ANTIBODY SHOP HYB 099-01) を標準として ELISA 法で測定¹¹⁾した。

8. 統計処理

統計解析用ソフト SPSS 12.0J (エス・ピー・エス・エス 株式会社) を用いて行った。

結果

DW-生食群、DW 群、10TW 群を陰性対照、OVA 投与群を陽性対照とし、OVA 群と、OVA と Tween80 を混合して塗布した、0.5TWOVA 群、1TWOVA 群、5TWOVA 群、10TWOVA 群、20TWOVA 群との結果を比較した。検定は、ノンパラメトリックな方法である Mann-Whitney 検定で行った。

1. 体重、耳介厚、臓器重量

惹起 2 週後の体重、耳介厚、臓器重量を表 2 に示す。

表 2 耳介厚と臓器重量の平均値

実験群	右側耳介厚 (mm)	左側耳介厚 (mm)	右側耳介厚/左側耳介厚	体重 (g)	胸腺 (g)	脾臓 (g)	肝臓 (g)	胸腺重量体重比 (%)	脾臓重量体重比 (%)	肝臓重量体重比 (%)
DW-生食	0.264	0.263	1.00	25.0	0.0346	0.1086	1.31	0.139	0.435	5.26
DW	0.257	0.253	1.02	25.2	0.0362	0.0988	1.33	0.143	0.391	5.29
10TW	0.257	0.253	1.02	25.5	0.0316	0.1004	1.24	0.124	0.395	4.86
OVA (対照)	0.262	0.254	1.03	24.3	0.0352	0.0956	1.16	0.145	0.393	4.78
0.5TWOVA	0.256	0.254	1.01	24.4	0.0350	0.0993	1.35	0.143	0.406	5.50
1TWOVA	0.257	0.250	1.03	23.9	0.0362	0.0964	1.23	0.152	0.404	5.14
5TWOVA	0.259	0.254	1.02	24.9	0.0324	0.0994	1.21	0.131	0.399	4.87
10TWOVA	0.263	0.252	1.04	23.2	0.0358	0.0978	1.08	0.154	0.421	4.65
20TWOVA	0.264	0.255	1.04	24.0	0.0348	0.0960	1.10	0.145	0.399	4.57
OVA投与(陽性対照)	0.257	0.252	1.02	23.9	0.0378	0.0916	1.17	0.159	0.382	4.89

胸腺重量体重比には有意な差は認められなかった。

脾臓重量体重比は、DW-生食群と比較して、OVA の惹起を行ったほとんどの群で減少していた。OVA 群との比較では 10TWOVA 群で増加していたが、Tween80 の濃度が異なる他の群では差がなく系統的な変化ではなかった (図 2)。

肝臓重量体重比も DW-生食群と比較して OVA の惹起を行ったほとんどの群で減少していた。OVA 群との比較では 0.5TWOVA 群で増加し、10TWOVA 群で減少しており、Tween80 濃度が低いと増加し、高いと減少する傾向があった (図 3)。

右側耳介厚/左側耳介厚は、有意な差はみられなかった。

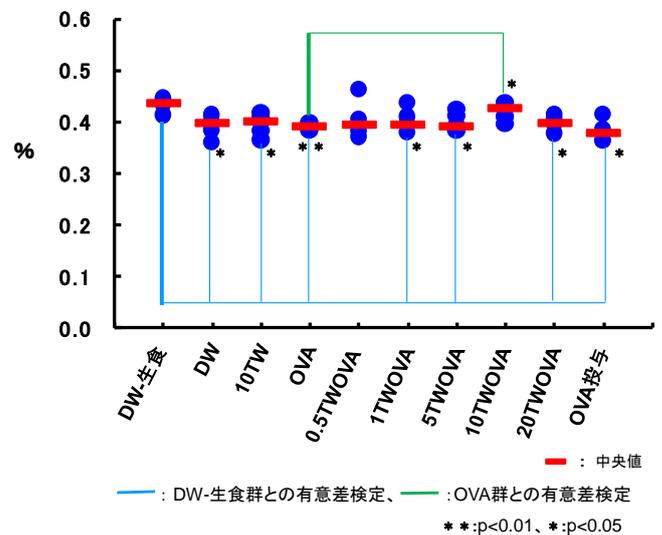


図 2 脾臓重量体重比

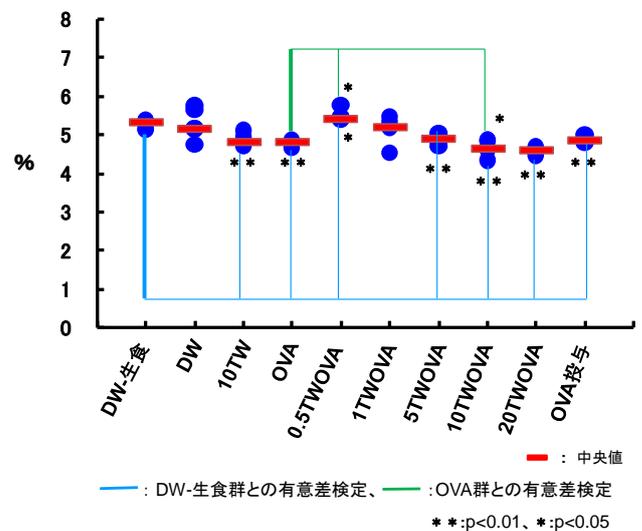


図 3 肝臓重量体重比

2. 右耳の病理組織学的観察

図4に惹起2週後の右耳の光学顕微鏡写真を示す。いずれの群も、耳介表皮厚に有意な差はみられなかった。また、マスト細胞数は、OVA群と比較して5TWOVA群のみで有意に増加していたが、Tween80の濃度が異なる他の群では差がなく系統的な変化ではなかった(図5)。

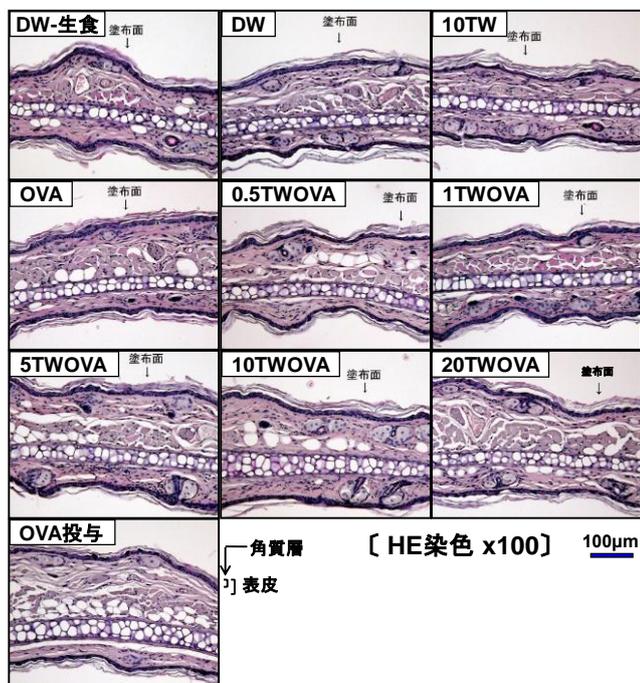


図4 惹起2週後の右耳の光学顕微鏡写真

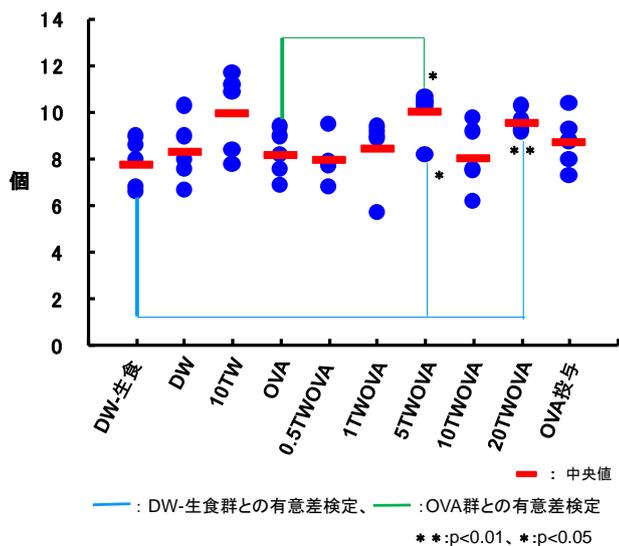


図5 マスト細胞数

3. 右側耳介背面の外観

試験溶液塗布後の右側耳介に赤味(紅斑)を生じるも

のがあったが、浮腫の形成はみられなかった。紅斑の程度を経済協力開発機構(OECD)ガイドライン¹²⁾における急性皮膚刺激性の判定基準に準じて5段階(0:紅斑なし、1:非常に軽度な紅斑、2:はっきりした紅斑、3:中等度ないし高度紅斑、4:高度紅斑から紅斑の採点を妨げる痂皮の形成)に評価した結果を表3に示す。塗布1日後では、感作時にOVAと共に5%以上の濃度のTween80を塗布した群で右耳介が「非常に軽度な紅斑」を示した。

塗布1日後および4日後の代表的マウスの右側耳介背面の写真をそれぞれ図6、図7に示す。紅斑の強度は、塗布4日後に最大となり、以後徐々に軽減した。

表3 塗布後の右側耳介背面の紅斑スコア

検体名	塗布後の日数																						
	1	2	4	5	6	7	8	9	12	13	14	15	16	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
DW-生食1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW-生食2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW-生食3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW-生食4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW-生食5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DW5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TW1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TW2	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TW3	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TW4	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TW5	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5TWOVA1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5TWOVA2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5TWOVA3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.5TWOVA4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1TWOVA1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1TWOVA2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1TWOVA3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1TWOVA4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1TWOVA5	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5TWOVA1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5TWOVA2	1	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5TWOVA3	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5TWOVA4	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5TWOVA5	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TWOVA1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TWOVA2	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TWOVA3	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TWOVA4	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10TWOVA5	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20TWOVA1	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20TWOVA2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20TWOVA3	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20TWOVA4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20TWOVA5	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA投与1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA投与2	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA投与3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA投与4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
OVA投与5	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

0: 紅斑なし、1: 非常に軽度な紅斑、2: はっきりした紅斑、3: 中等度ないし高度紅斑、4: 高度紅斑から紅斑の採点を妨げる痂皮の形成

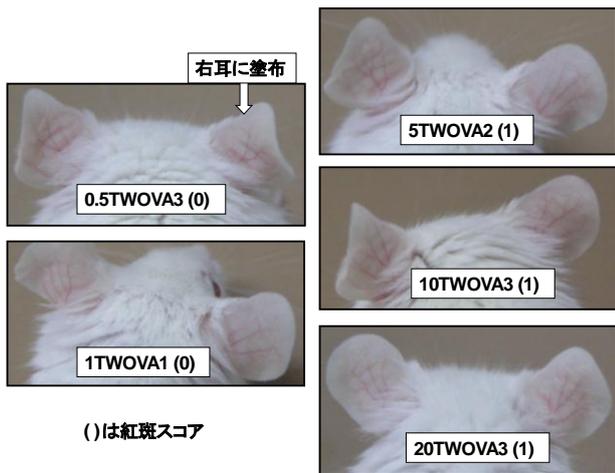


図6 塗布1日後の右側耳介背面

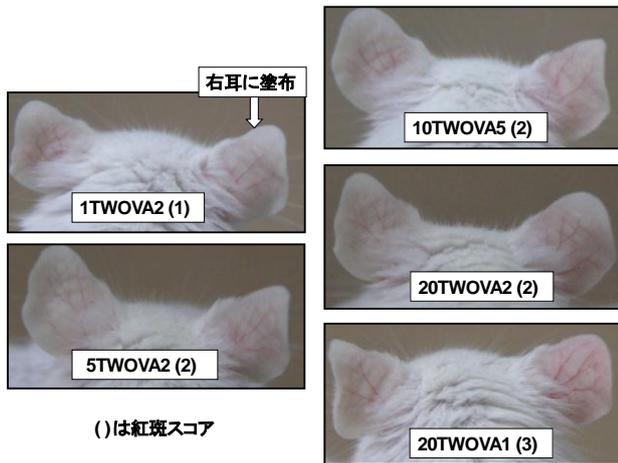


図7 塗布4日後の右側耳介背面

4. 血清中 OVA 特異的抗体

OVA 特異的 IgE: アレルギー疾患に関与すると考えられている血清中 OVA 特異的 IgE は、陽性対照の OVA 投与群でも検出限界以下の値があり、他の群ではほとんどの測定値が検出限界以下で、抗体価に有意差は無かった。

OVA 特異的 IgG1: 各群の血清中 OVA 特異的 IgG1 の測定値を図8に示す。

特異的 IgG1 は、マウスではアレルギー疾患に関与すると考えられている¹³⁾。OVA 特異的 IgG1 は、OVA の感作も惹起も行わない DW-生食群と比較して OVA の惹起を行った群で産生が亢進していた。

DW 群と比較して、OVA 群は差がなく、OVA 群の抗体

産生は惹起のみによるものと考えられた。

OVA 群との比較では、感作時に OVA と共に塗布した Tween80 濃度が 1%以下の群では OVA 群と同程度の抗体価で、有意差はなかった。

感作時に OVA と共に塗布した Tween80 濃度が 5%以上の群では、OVA 群と比較して抗体価が有意に高く、抗体価の中央値は 5TWOVA 群、10TWOVA 群、20TWOVA 群でそれぞれ OVA 群の 12.5 倍、6.4 倍、20.6 倍であった。

感作と惹起を投与で行った OVA 投与群も、OVA 群と比較して抗体価は有意に高かった (17.3 倍)。

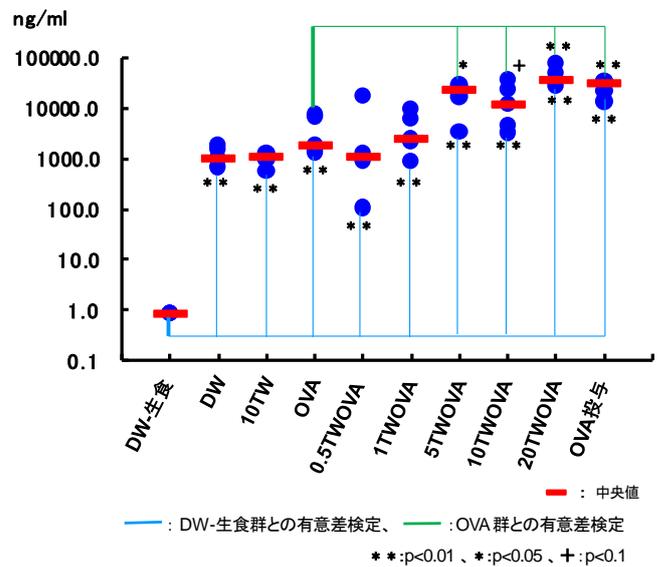


図8 血清中 OVA 特異的 IgG1

考察

実験は、感作時に OVA と混合して塗布した Tween80 が、OVA の経皮吸収を促進した場合、惹起した後の OVA 特異的抗体産生が亢進すると考え実施した。

また、耳は、毛が少ないので塗布前に毛をそる必要が無く、皮膚を傷つける心配が無いので、塗布の場所として適当であると考え採用した。

今回の実験では、OVA 特異的 IgE の産生は、ほとんど無かった。

OVA 特異的 IgG1 の産生は、DW-生食群との比較で OVA の惹起を行ったすべての群で亢進がみられ、惹起のみで亢進すると考えられた。これらの群では脾臓重量体重比

と肝臓重量体重比が減少する傾向がみられた。OVA 群と比較して抗体産生が亢進していた 10TWOVA 群で、肝臓重量体重比はさらに減少しており、抗体産生量との関係が示唆された。

OVA 群との比較で、OVA と共に Tween80 を耳に 1 日塗布した場合、1%以下の Tween80 では OVA 特異的抗体の産生亢進はみられず、OVA の経皮吸収促進はおこらなかったと考えられる。5%以上の Tween80 では OVA 特異的抗体の産生亢進がみられ、OVA の経皮吸収が促進され感作に必要な量が侵入したと考えられた。

OVA 特異的抗体産生亢進がみられなかった 1%以下の Tween80 の群では、塗布 1 日後の肉眼所見では耳に紅斑がみられなかったが、Tween80 濃度 5%以上の群では、塗布 1 日後から肉眼所見で耳に紅斑がみられ、軽度の刺激性が観察された。軽度の刺激反応が、OVA の経皮吸収を促進したと考えられた。

耳の紅斑は、塗布 19 日以降みられなくなった。塗布 4 週後（惹起 2 週後）の病理組織学的観察でも、耳介表皮厚は、いずれの群も DW-生食群と差がなく、マスト細胞数にも系統的な変化がみられなかった。これらの結果から、塗布 4 週後（惹起 2 週後）には Tween80 の刺激性の影響は認められず、改善したものと考えられた。

Tween80 の刺激性については、ヒトでは原液でも無い¹⁴⁾という報告があり、種差により感受性に差があると考えられる。

ヒトでは 5%Tween80 には刺激性が無いと考えられるので、今回のマウスの結果がそのままヒトに当てはまるとは考えられないが、刺激性に対する感受性には個人差もあり、アレルゲンになる可能性がある物質と混合して Tween80 を塗布する場合は注意が必要であると考えられる。

この研究は、大阪府立公衆衛生研究所の動物実験委員会の指針に従い、動物に不必要な苦痛を与えないように配慮して行った。

文献

- 1) 厚生科学審議会疾病対策部会 リウマチ・アレルギー対策委員会: リウマチ・アレルギー対策委員会報告書, 平成 23 年 8 月
- 2) 近藤直実: アレルギー発症における遺伝子と環境, ア

- レルギー, **56**, 94-100 (2007)
- 3) 斉藤博久: 衛生仮説, 呼吸, **25**, 373-377 (2006)
- 4) 吉田龍太郎: マウスの IgE 産生機構-アレルギー疾患が重なり合う理由を求めて, アレルギー, **59**, 1619-1624 (2010)
- 5) H. Saito: Translation of the human genome into clinical allergy, *Allergology International*, **52**, 65-70(2003)
- 6) 環境省: 平成 13 年度版環境白書, 平成 13 年 5 月
- 7) 千貫祐子, 崎枝薫, 金子栄, 中村千春, 村田将, 澄川靖之, 新原寛之, 吉田雄一, 東儀君子, 森田栄伸: 石鹼中の加水分解小麦で感作され小麦依存性運動誘発アナフィラキシーを発症したと思われる 3 例, 日皮会誌, **120**, 2421-2425 (2010)
- 8) 東恵美子, 中島孝江: マウスに対するラウレス硫酸ナトリウム吸入の生体影響について, 大阪府立公衆衛生研究所報, 第 50 号, 38-44 (2012)
- 9) 医薬品添加物事典 2005
- 10) T. Hirano, N. Yamakawa, H. Miyajima, K. Maeda, S. Takai, A. Ueda, O. Taniguchi, H. Hashimoto, A. Shirase, K. Okumura and Z. Ovary : An improved method for the detection of IgE antibody of defined specificity by ELISA using rat monoclonal anti-IgE antibody, *Journal of Immunological Methods*, **119**, 145-150 (1989)
- 11) H. Fujimaki, N. Ui and T. Endo : Induction of inflammatory response of mice exposed to diesel exhaust is modulated by CD4(+) and CD8(+) T cells, *American Journal of Respiratory and Crit Care Med*, **164**, 1867-1873 (2001)
- 12) OECD: OECD guidelines for testing of chemicals Acute dermal irritation/corrosion.404, Paris. France (1992)
- 13) Y. Miyabara, R. Yanagisawa, N. Shimojo, H. Takano, HB. Lim, T. Ichinose, M. Sagai : Murine strain differences in airway inflammation caused by diesel exhaust particles, *European Respiratory Journal*, **11**, 291-298 (1998)
- 14) A. Blondeel, J. Oleffe, G. Achten : Contact allergy in 330 dermatological patients, *Contact Dermatitis*, **4**, 270-276 (1978)