

また、物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性について検討するため、滅菌生理食塩水のみを、同様に投与した。点鼻投与は曝露前に1度行い、その後1週間ごとに1回、計6回行った。

5) くしゃみ回数の測定

抗原投与後、20分間に誘発されるくしゃみ回数を測定した。

くしゃみ回数は、モルモットを首かせ式保定器によって固定し無麻酔下で、呼吸流速の急激な増加、肺内容量の減少、およびくしゃみの際の音声と肉眼的観察によって測定した。呼吸流速はニューモタコグラフ (no. 3, Fleish, Instruments, Lausanne, Switzerland) を用いて、アンプ (carrier demodulator, model CD72, Validyne, Northridge, CA) を接続した差圧トランスデューサー (model MP4514, Validyne, Northridge, CA) でニューモタコグラフ前後の差圧を測定することにより求めた。肺内容量の変化は首以下の体部の体積変化を箱内圧を差圧トランスデューサーで測定し指標とした。また、モルモットの口の前に小型マイクロフォン (RP3102, 日本光電工業株式会社、東京) を置き、スピーカー (CFDD77, ソニー株式会社、東京) によりくしゃみの音声を確認した。

6) 鼻汁量測定

抗原投与後、20分間に鼻孔外に放出された鼻汁量を、あらかじめ重量を測っておいたキムワイブに吸収させ重量の増加を測定し、鼻汁分泌の指標とした。

7) 抗体価の測定

6回目の最終抗原投与24時間後、腋窩動静脈より採血を行った。採取した血液は、3500rpm、30分間で遠心し、血清を分取した。モルモット IgG₁ 測定キット (森永生科学研究所、横浜) を用いて、血清中の IgG₁ 抗体価の測定を行った。

8) 組織学的検討

6回目の最終抗原投与24時間後、腋窩動静脈の切断により放血致死させた後、鼻部を採取した。皮膚や筋肉を除去し、中性ホルマリンにより固定した。固定後、脱灰液 (Decalcifying Soln. B) により脱灰し、切り出した切片を、TP1050 (Leica, Germany) で前処理した後、Histo Embedder (CV5000 Leica, Germany) を用い、パラフィン包埋した。ミクロトーム (RM2155 Leica, Germany) を用いて作成した5 μ mの厚さの薄切切片を、1% Poli-L-Lysin を塗布したスライドガラス (松浪硝子工業株式会社、大阪) に張り付け、Auto Stainer XL (Leica, Germany) によってヘマトキシリン-エオジン染色した。好酸球の浸潤数は光学顕微鏡 (BX50, オリンパス) を用いてビデオマイクロメーター (オリンパス) により、鼻中隔上皮および上皮下の単位面積あたりの数を計測した。

9) 統計学的検討

値は平均値±標準誤差で示した。清浄空気曝露群と DE、DEG、または NO₂ 曝露群の有意差の比較検討は、Mann-Whitney の U 検定を用いて解析し、p 値が 0.05 未満を有意とした。

C. 研究結果

1) DE および DEG 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 4 に示した。

清浄空気曝露群に比し、DE 曝露群では 5 回目の抗原投与後にくしゃみ回数の有意な増加が見られた (Fig. 4)。DEG 曝露群では有意な増加は見いだされなかった (Fig. 4)。

2) DE および DEG 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与による鼻汁分泌量に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 5 に示した。

清浄空気曝露群に比し、DE 曝露群では、2、4 回目の抗原投与後に鼻汁分泌量の有意な増加が見られた (Fig. 5)。DEG 曝露群では、5 回目の抗原投与後に鼻汁分泌量の有意な増加が見られた (Fig. 5)。

3) DE および DEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が生理食塩水投与による物理的刺激に対する鼻粘膜の反応性に及ぼす影響をくしゃみおよび鼻汁分泌量を指標に検討した結果を Fig. 6-7 に示した。

DE および DEG 曝露群のくしゃみ回数は清浄空気曝露群に比し、有意な増加は見られなかった (Fig. 6)。また、DE および DEG 曝露群の生理食塩水投与後による鼻汁分泌量も有意な増加は見いだされなかった (Fig. 7)。

4) DE および DEG 曝露が抗原投与による抗体産生に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与による抗体産生に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 8 に示した。

清浄空気曝露群に比し DE 曝露群では、IgG₁ 抗体価の増加傾向 ($P < 0.09$) が見いだされた (Fig. 8)。DEG 曝露群では、IgG₁ 抗体価の増加は見いだされなかった (Fig. 8)。

5) DE および DEG 曝露が抗原投与による好酸球浸潤に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が抗原投与によって誘発される好酸球浸潤に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 9 に示した。

DE および DEG 曝露いずれにおいても、清浄空気曝露群に比し鼻中隔上皮、上皮下において有意な好酸球浸潤数の増加が見られた (Fig. 9)。

6) DE および DEG 曝露が鼻粘膜組織に及ぼす影響

DE および DEG 曝露が鼻粘膜組織に及ぼす影響について Fig. 10 に示した。

清浄空気曝露群 (Fig. 10-a) に比べ、DE 曝露群において鼻粘膜上皮の損傷、及び杯細胞の増加が見られた (Fig. 10-b)。DEG 曝露においては、DE 曝露群より影響は弱い、上皮損傷や肺細胞の増加が見いだされた (Fig. 10-c)。

7) NO₂ 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響

0.1、0.3、1 ppm NO₂ 曝露が抗原投与によるくしゃみ回数に及ぼす影響を検討した結果を Fig. 11-13 に示した。