

株式会社 咲楽御中

研究計画書

マウスに対する 7 種類の温泉水効果と
かゆみの抑制効果に関する研究

純真学園大学保健医療学部

鈴鹿医療科学大学大学院医科学研究科

教授・漢医師・健康科学博士 具 然和

令和 6 年 06 月 07 日

はじめに

この研究では、マウスに対する7種類の温泉水効果と、かゆみや皮膚炎のかゆみ伝達機序を解明することを目的としました。天然温泉水を比較研究し、その結果が温泉スキンケア製品の開発に貢献することが期待される。

皮膚炎に伴うかゆみの伝達には、感覚神経における転写因子 STAT3 の活性化が重要な役割を果たしていることが明らかになっています。皮膚炎によるかゆみに深く関与する IL-31 は、感覚神経に発現する受容体に作用し、かゆみを引き起こすことが実証されています¹⁻⁸⁾。

また、IL-31 受容体の下流で、転写因子 STAT3 が活性化されることがかゆみ誘導に重要であることを示し、感覚神経の STAT3 は、IL-31 受容体の発現や、かゆみ伝達に関わる神経ペプチドの発現にも重要であることがわかりました。

感覚神経における STAT3 は、IL-31 に依存するかゆみだけでなく、IL-31 に非依存の炎症性かゆみにも重要な役割を果たしていることが示唆されています⁹⁻¹⁴⁾。

これらの結果から、STAT3 の阻害薬が開発・改良されれば、新たなかゆみの治療法となる可能性が示されています。

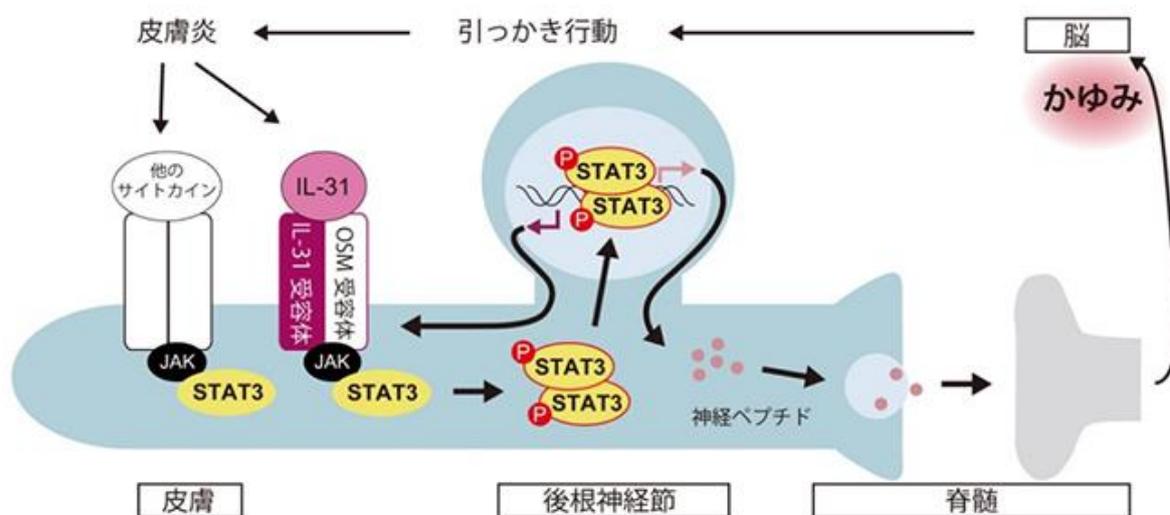


図 1. 温泉水とかゆみの抑制効果に関するかゆみを伝達する感覚神経細胞における STAT3 の役割

1. 研究目的

かゆみは「引っ掻きたいという欲求を引き起こす不快な皮膚感覚」と定義され、皮膚および一部の粘膜に特有の感覚です。かゆみは、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、蕁麻疹、乾癬、アレルギー性疾患などの様々な皮膚病や、慢性腎不全、胆汁うっ滞などの全身性、特に内臓疾患の症状の一つです。かゆみは非常に耐えがたく、そのかゆみによる引っ掻き行動により、一部はその感覚の不快感を快感へと、一部は内因性の起痒物質の遊離を促進し、かゆみの増加および増強へと導きます。

このようなかゆみの悪循環を「itch-scratch cycle」と呼びます。この悪循環による持続した引っ掻きにより皮膚炎等の症状がさらに悪化し、眼に関しては白内障を招くこともあります。

また、かゆみは不快な感覚であることから、QOL（生活の質）の低下を招きます。これらのことから、かゆみの抑制は臨床上極めて重要な治療目標の一つとなっています。しかしながら、このように臨床上問題となる皮膚疾患のかゆみに対しては、古くからかゆみのメディエーターとされてきたヒスタミンの受容体（H1 ヒスタミン受容体）拮抗薬が無効であることが多いのです。したがって、新規鎮痒薬の開発が望まれています。

この研究では、動物を用いて客観的に評価します。特に動作に焦点を当て、ICR系マウス、NC/Nga マウス、NC/NgaSlc マウスのかゆみを誘発するかゆみ物質の低減を改善するため、様々な温泉水の効果を調査しました。また、慢性掻痒性皮膚疾患のかゆみには、H1 ヒスタミン受容体拮抗薬が無効であることが多い。従って、ヒスタミンが主要なかゆみのメディエーターである可能性は低く、温泉水は新規のかゆみのメディエーターの存在有無を探索した。したがって、この研究では、マウスを用いたかゆみ研究の成果を基に、マスト細胞ではなく、最適な温泉水に着目した経緯と最適な温泉水がかゆみ発生への関与に関する研究も行いました。

2. 研究方法

多くの皮膚疾患において、その主要な症状の一つとして「かゆみ」がある。かゆみは抑制できない場合、苦痛となり、かゆみによる掻破が皮膚症状を悪化させる。したがって、掻痒性皮膚疾患では、かゆみと掻破の抑制が重要な治療目標となる。これまで、マスト細胞から遊離されるヒスタミンが内因性のかゆみ因子として重要な役割を担っていると考えられてきたが、このような皮膚疾患のかゆみに対しては、H1 ヒスタミン受容体拮抗薬が無効であることが多い。このことは、マスト細胞—ヒスタミン系以外にかゆみのメディエーターおよび発生機序が存在することを示唆している¹⁵⁻²⁰⁾。

そこで、マウスを用いたかゆみの評価系を確立し、様々なかゆみのモデルマウスを用いた研究から、特定の温泉水がかゆみに関連するロイコトリエン B4、トロンボキサン A2、ノシセプチン、一酸化窒素および過酸化水素を産生・遊離することが明らかとなった。

マウスへの皮内注射により、かゆみに関連する動作である注射部位への後肢による掻き動作を誘発することができる。一酸化窒素は、起痒物質の皮内注射によって惹起される掻き動作を増強する。また、特定の温泉水から産生・遊離されたトロンボキサン A2 やノシセプチンは、一次感覚神経への直接作用に加え、かゆみを増強する可能性を示す。一般的に、アレルギー性のかゆみには IgE が重要な役割を果たしていることが知られている。最近の研究では、高親和性 IgG 受容体が一次感覚神経に発現しており、一次感覚神経上での抗原-IgG 複合体形成による直接作用に加え、

特定の温泉水の活性化による搔痒反応発生機序の存在が明らかにされた²¹⁻²⁶⁾。したがって、この研究では、マウスに対する7種類（コントロール群, 榊原温泉源水群, 榊原温泉5倍群, こしかの温泉3倍群, ことほぎ温泉5倍群, 三多気温泉5倍群, 金剛水5倍群, CARESUI ジェル群）の温泉水のかゆみ抑制効果について調べ、その改善効果を評価する。

2-1. 研究方法

(1) 免疫グロブリン

即時型アレルギーのかゆみには、IgE マスト細胞系の関与がよく知られている。しかしながら、アトピー性皮膚炎マウスモデルでは、血清中の IgE 量を調べた。蚊アレルギー性搔痒マウスモデルでは、そのアレルギー性の掻き動作が H1 ヒスタミン受容体によって抑制される効果も調べた。

また、血清中の IgE は非感作マウスと比較し、IgG1 の量も測定した。

マスト細胞を有しないマウス（マスト細胞欠損マウス）でも感作処置を行い、抗原に対する同様の感作処置を行ったマスト細胞を有する健常マウスと同程度の掻き動作を生じた。

これらのことから、IgE マスト細胞系以外のアレルギー性のかゆみの発生機序の存在が示唆される。

一次感覚神経に高親和性 IgG 受容体が発現し、感作状態では皮膚内の一次感覚神経に抗原が結合すること、抗原-IgG1 複合体の形成が一次感覚神経を刺激すること、さらに神経終末からサブスタンス P が遊離されることが明らかになった²⁷⁻³¹⁾。

したがって、この研究では、マウスに対する7種類（コントロール群, 榊原温泉源水群, 榊原温泉5倍群, こしかの温泉3倍群, ことほぎ温泉5倍群, 三多気温泉5倍群, 金剛水5倍群, CARESUI ジェル群）の温泉水のかゆみ抑制効果に関する研究を行い、その改善効果を調べる。

(2) 実験動物の飼育環境

飼育環境（室温 22±3°C、湿度 60%、室内照明点灯時間 14 時間、消灯時間 10 時間）に慣らす為、予備飼育として 1 週間飼育し、生後 6 週齢目より実験を開始する。水（Tap water）および飼料（CA-1：日本クレア社）は自由摂取させた。

(3) IgG 及び IgE に関する研究

ICR マウス、NC/Nga マウス、NC/NgaSlc マウスを使用し、血清中の総 IgG および IgE の測定を行いました。これには、ベツチル社製の Mouse IgE ELISA Quantitation Kit および Mouse IgG ELISA Quantitation Kit を使用し、酵素免疫定量測定法（ELISA 法）を採用しました。ELISA 法は、特定の物質（この場合は IgG、

IgE) を検出するために、抗体と酵素を用いて特異的に結合し、酵素の発色反応によって物質の濃度を測定する方法です。

具体的な測定手順として、はじめに麻酔下のマウス心臓より、テルモ社製 シリンジ (針:23G) を用いて、全血の採血を行ない血液凝固防止ためヘパリン処理(5 単位/ml) したのち、遠心分離 (Time : 15min 、1.5×1000rpm) にかけて全血より血清のみを分離する。96 穴マイクロプレートに Coating Buffer で 1/100 に希釈した固相抗体を 100 μ l/well ずつ分注し、室温で 60 分間インキュベーションを行った。インキュベーション後、Coating Buffer を捨て Wash 溶液により 2 回洗浄を行った。つぎに Postcoat 溶液を 200 μ l/well ずつ分注し固相抗体の固相化を行った。室温で 30 分間のインキュベーション後、Postcoat 溶液を捨て Wash 溶液により 2 回洗浄を行った。Sample 希釈液で 50 倍希釈した血清と概知濃度の標準血清を 100 μ l/well ずつ分注し、室温で 60 分間インキュベーションを行った。インキュベーション後、血清を捨て Wash 溶液により 4 回洗浄を行ない、Conjugate 希釈液で 1/120,000 に希釈した酵素標識抗体を 100 μ l/well ずつ分注し酵素標識を行ない、60 分間のインキュベーション後、酵素溶液を捨て Wash 溶液により 4 回洗浄を行った。洗浄後、酵素基質液を 100 μ l/well ずつ分注し酵素を発色させるため、15 分間のインキュベーションを行った。反応停止液を 100 μ l/well ずつ分注し発色反応を停止させた後、東洋曹達株式会社製マイクロプレートリーダーMPR A4 (波長 : 450nm) を用いて吸光度を測定する。血清中の総 IgG および IgE の濃度については、標準血清の吸光度より標準曲線を作成し、その標準曲線より血清中の総 IgG および IgE の濃度を求める。血清中の総 IgG および IgE の濃度は、標準曲線から求められます。統計学的分析には、血清中の濃度の有意差検定にパラメトリックな t-検定を使用しました。この研究では、マウスに対する 7 種類 (コントロール群, 榊原温泉源水群, 榊原温泉 5 倍群, こしかの温泉 3 倍群, ことほぎ温泉 5 倍群, 三多気温泉 5 倍群, 金剛水 5 倍群, CARESUI ジェル群) の温泉水とかゆみの抑制効果に関する研究を行い、その改善効果について調べた³²⁻³⁸⁾。

(4) IL-31 に関する研究

ICR マウス、NC/Nga マウス、NC/NgaSlc マウスを用いて血清中の IL-31 の測定については、ベッチル社 (Bethyl Laboratories, Inc) 製の Mouse IL-31 ELISA Quantitation Kit を用いて、酵素免疫定量測定法によるマウス血清中の IL-31 の測定を行った。ELISA 法は、IL-31 の検出剤として抗体と酵素を用いて、特定の物質と特異的に結合する抗体の抗原抗体反応と酵素の発色による呈色の程度を目的物質の濃度として求める方法である。具体的な測定手順として、はじめに麻酔下のマウス心臓より、テルモ社製 シリンジ (針 : 23G) を用いて、全血の採血を行ない血液凝固防止ためヘパリン処理 (5 単位/ml) したのち、遠心分離 (Time : 15min 、1.5×1000rpm) にかけて全血

より血清のみを分離する。96 穴マイクロプレートに Coating Buffer で 1/100 に希釈した固相抗体を 100 μ l/well ずつ分注し、室温で 60 分間インキュベーションを行った。インキュベーション後、Coating Buffer を捨て Wash 溶液により 2 回洗浄を行った。つぎに Postcoat 溶液を 200 μ l/well ずつ分注し固相抗体の固相化を行った。室温で 30 分間のインキュベーション後、Postcoat 溶液を捨て Wash 溶液により 2 回洗浄を行った。Sample 希釈液で 50 倍希釈した血清と概知濃度の標準血清を 100 μ l/well ずつ分注し、室温で 60 分間インキュベーションを行った。インキュベーション後、血清を捨て Wash 溶液により 4 回洗浄を行ない、Conjugate 希釈液で 1/120,000 に希釈した酵素標識抗体を 100 μ l/well ずつ分注し酵素標識を行ない、60 分間のインキュベーション後、酵素溶液を捨て Wash 溶液により 4 回洗浄を行った。洗浄後、酵素基質液を 100 μ l/well ずつ分注し酵素を発色させるため、15 分間のインキュベーションを行った。反応停止液を 100 μ l/well ずつ分注し発色反応を停止させた後、東洋曹達株式会社製マイクロプレートリーダーMPR A4（波長：450nm）を用いて吸光度を測定する。血清中 IL-31 の濃度については、標準血清の吸光度より標準曲線を作成し、その標準曲線より血清中の IL-31 の濃度を求める³⁹⁻⁴²⁾。統計学的分析については、血清中の IL-31 の濃度が正規性を示すため、統計処理には 2 群間におけるパラメトリックな t-検定を用いて IL-31 の濃度の有意差検定を行った。この研究では、マウスに対する 7 種類（コントロール群, 榊原温泉源水群, 榊原温泉 5 倍群, こしかの温泉 3 倍群, ことほぎ温泉 5 倍群, 三多気温泉 5 倍群, 金剛水 5 倍群, CARESUI ジェル群）の温泉水とかゆみの抑制効果に関する研究を行い、その改善効果について調べた。

(5) マウスの皮膚の観察

(5-1) マウス背部の皮膚のマイクロ스코プの画像による分析

肌写真撮影には EF-S18-S 5mF 3.5-5.611 USM レンズを装着した Canon Eos KISS Digital IV を用いた。角層細胞剥離は、剥離標本作成後ポーラ化成（株）にて測定を行った。

(5-2) マウス皮膚の H&E 染色による分析

(5-2-1) 凍結スライド標本の作製

経口投与 18 週後に各群のマウスを頸椎脱臼し、左心室生理食塩水灌流（1 mL/min）により脱血し、10 %ホルマリン溶液での灌流（1 mL/min, 15 min）により固定した。脳を摘出して、10 %ホルマリン溶液で 24 時間浸漬（4 °C）し、さらに 10 %スクロース/0.1 M PBS（4 °C）に 4 時間、20 %スクロース/0.1 M PBS に 4 時間（4°C）、最後に 30 %スクロース/0.1 M PBS に一晩浸漬（4 °C）した⁴³⁻⁴⁴⁾。次に、OCT コンパウンド（凍結用包埋剤）を用いて凍結包埋し、クリオスタットで脳を 9 \cdot m に薄切し、スライドガラスに貼り付けた。その後、冷風で 1 時間以上乾燥させ、50 % EtOH に 30-60 分浸漬し、流水で 2-4 分洗浄した後、各染色法により組織学的検討を行った。この研究では、切片作製に際し David らを参考に行い、皮膚を薄切し

た。

(5-2-1) 皮膚切片の染色法（ヘマトキシリン・エオジン（Hematoxilin and eosin; HE）法

HE 染色の手順を Fig. 2A に、アルコール脱水および透徹の方法を Fig. 2B に示した。各群マウス脳切片標本を作成後、マイヤーのヘマトキシリン溶液で 5 分間染色し、流水で 20 分水洗した。次に 1 %エオジン液で 2-4 分染色し、10 秒程度軽く水洗して、余分のエオジン液を洗い、この操作を 2 回繰り返した。70 %、80 %、90 %、95 %、99 %（I、II）エタノールに各 10 秒ずつ浸漬して弁色と同時に脱水を行い、キシレン I、II で透徹後、オイキットを用いて封入した。

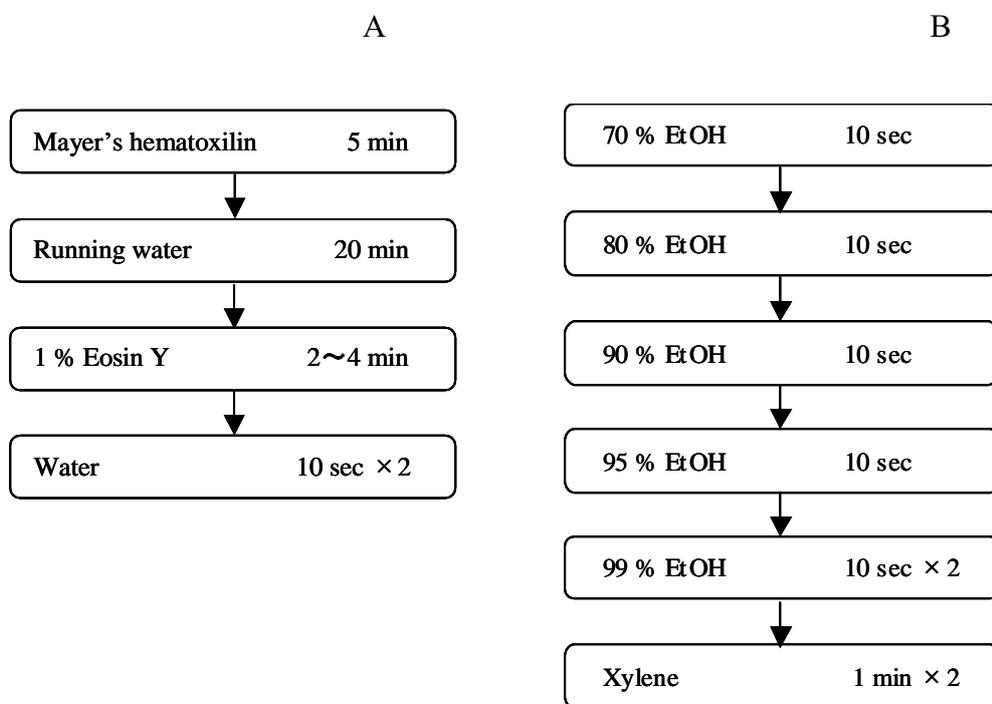


Fig. 2. Protocol of HE stain (A) and alcohol dehydration and penetration (B).

2-2. 統計解析

結果はすべて平均値±標準誤差で示す。有意差検定は短期投与試験では対応のある Dunnett 検定と T-検定にて行い、両側検定で 5%以下を有意水準とした。

3. 研究結果

3-1. マウス背部の皮膚のマイクロスコープの画像による分析

マウス背部の皮膚のマイクロスコープの画像の結果を Fig. 3 に示す。①かゆみ+コントロール群に比べて、②かゆみ+榊原温泉源水群③かゆみ+榊原温泉 5 倍群④かゆみ+こしかの温泉 3 倍群⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑦かゆ

み+金剛水 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群改善が見られた。特に①かゆみ+コントロール群に比べて、③かゆみ+榊原温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群に著しい改善が認められた。

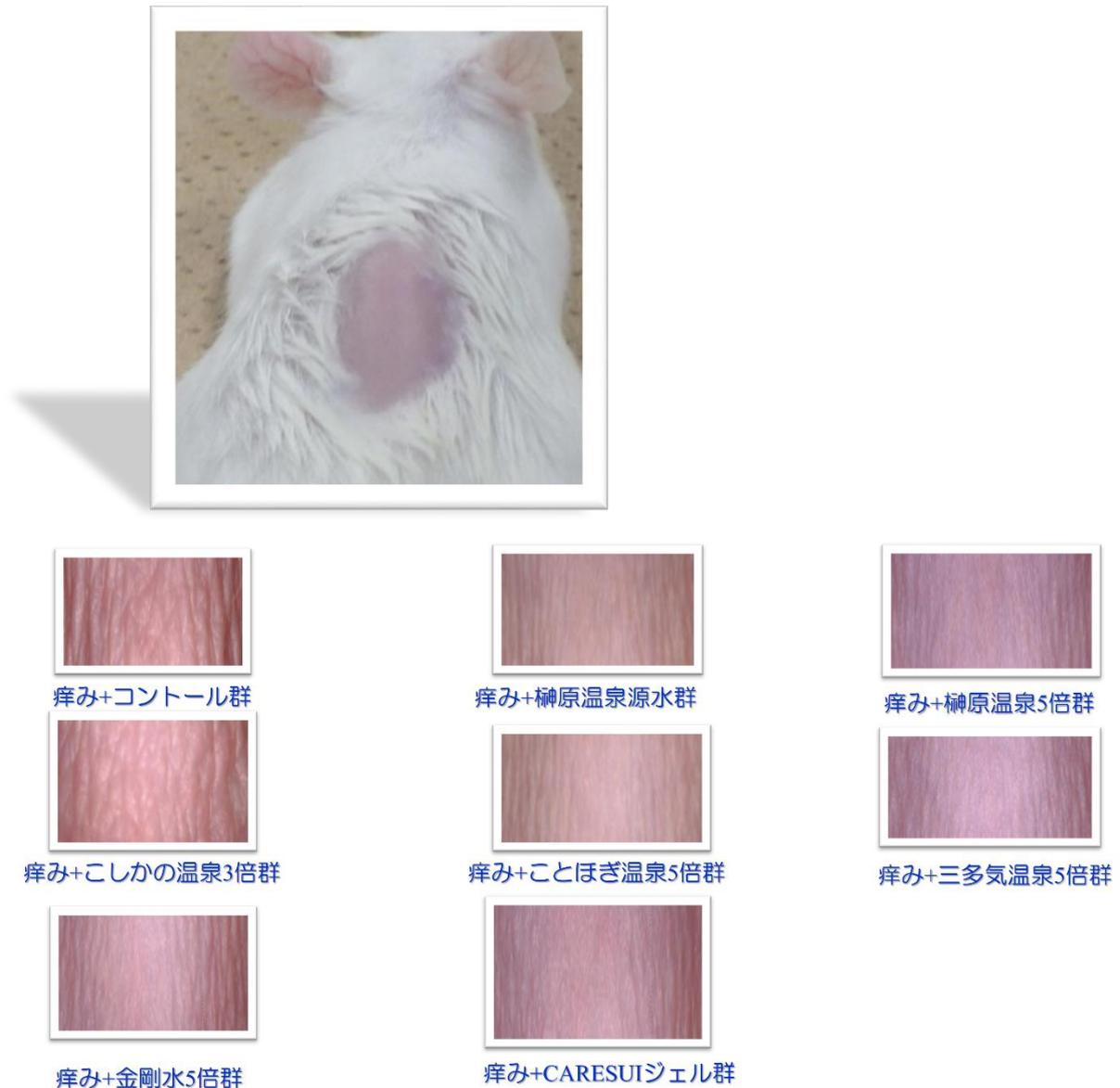


図 3. かゆみを発生させた皮膚のマイクロスコープの画像による分析

3-2. かゆみを発生させた皮膚の H&E 染色の画像による病理組織学的な分析

マウス皮膚のかゆみを発生させた皮膚の H&E 染色の画像による病理組織学的な分析の結果を Fig. 4 に示す。①かゆみ+コントロール群に比べて、②かゆみ+榊原温泉源水群③かゆみ+榊原温泉 5 倍群④かゆみ+こしかの温泉 3 倍群⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑦かゆみ+金剛水 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群改善が見られた。特に①かゆみ+コントロール群に比べて、③かゆみ+榊原温泉 5 倍群⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群

に著しい改善が認められた。

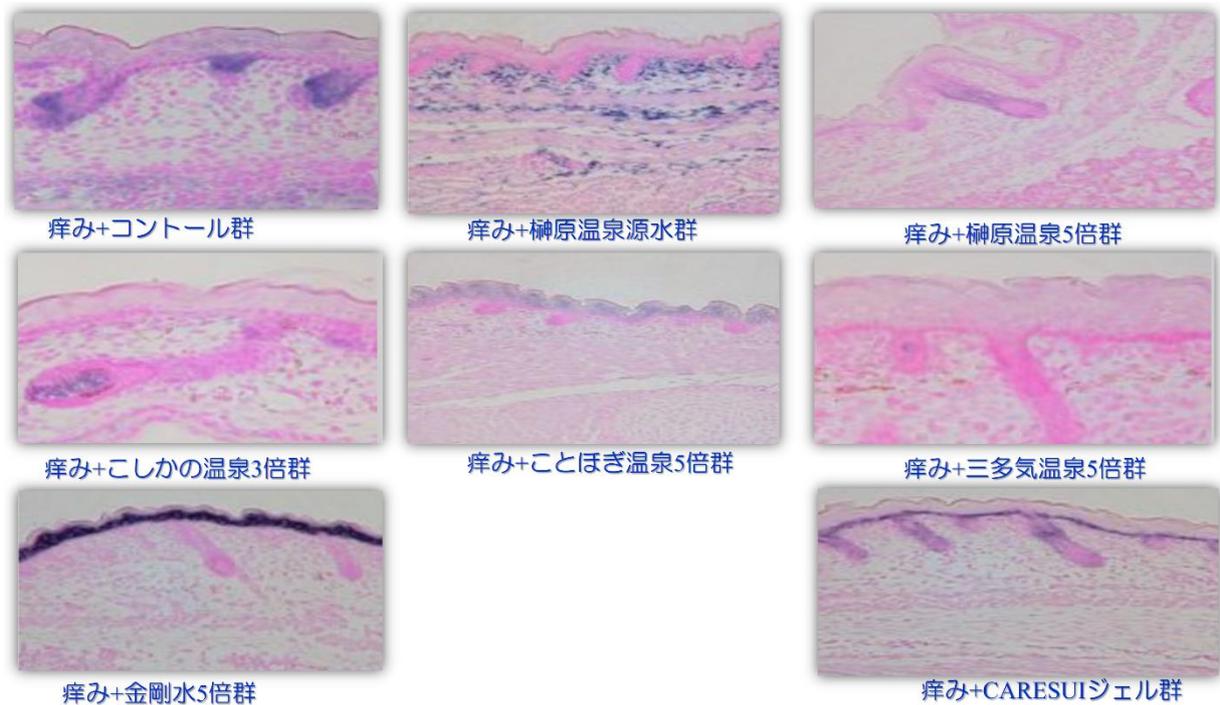


図 4. かゆみを発生させた皮膚の H&E 染色の画像による分析

3-3. かゆみを発生させたヒスタミン H1 受容体量 (% control) による生化学的なメカニズムの分析

マウス皮膚のかゆみを発生させたヒスタミン H1 受容体量 (% control) による生化学的なメカニズムの分析の結果を Fig. 5 に示す。①かゆみ+コントロール群 100%に比べて、②かゆみ+榊原温泉源水群 96%③かゆみ+榊原温泉 5 倍群 91%④かゆみ+こしかの温泉 3 倍群 93%⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群 92%⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群 93%⑦かゆみ+金剛水 5 倍群 94%⑧かゆみ+CARESUI ジェル群 90%の改善が見られた。特に①かゆみ+コントロール群に比べて 100%、③かゆみ+榊原温泉 5 倍群 91%⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群 92%⑧かゆみ+CARESUI ジェル群 90%に著しい改善が認められた。

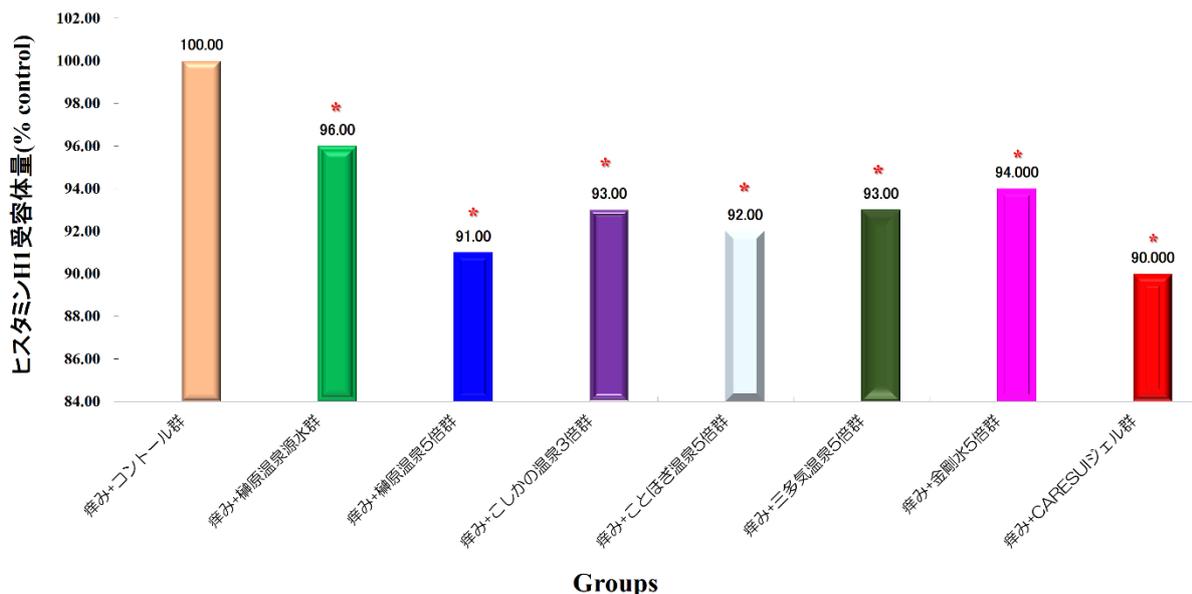


図 5. かゆみを発生させたヒスタミン H1 受容体量 (% control) による生化学的なメカニズムの分析

3-4. かゆみを発生させた血清 IgE による生化学的なメカニズムの分析

マウス皮膚のかゆみを発生させたかゆみを発生させた血清 IgE による生化学的なメカニズムの分析の結果を Fig. 6 に示す。①かゆみ+コントロール群に比べて、②かゆみ+榊原温泉源水群③かゆみ+榊原温泉 5 倍群④かゆみ+こしかの温泉 3 倍群⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑦かゆみ+金剛水 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群 9 の改善が見られた。特に①かゆみ+コントロール群に比べて、③かゆみ+榊原温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑦かゆみ+金剛水 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群に統計学的な有意差が認められ、著しい改善が認められた。

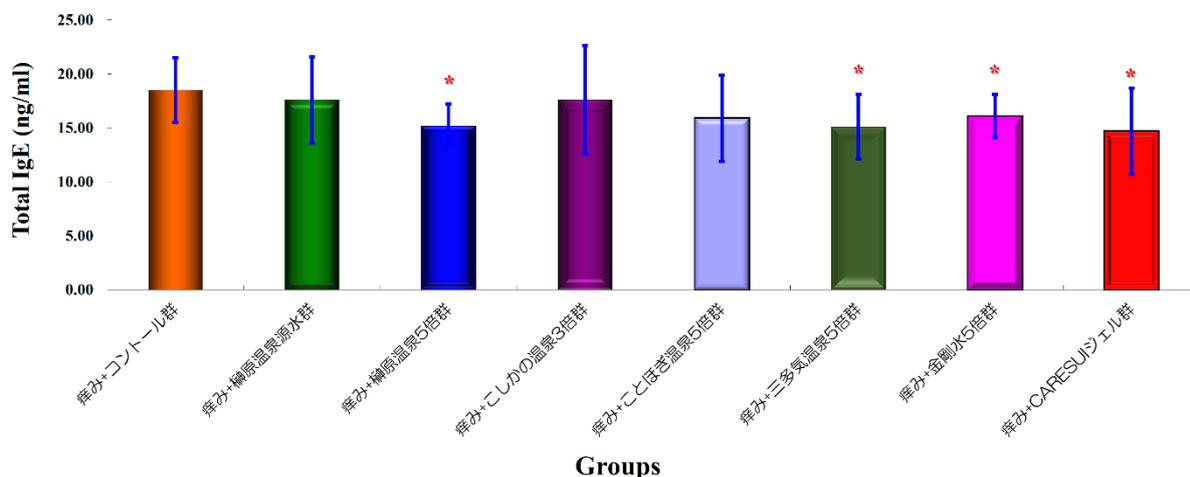


図 6. かゆみを発生させた血清 IgE による生化学的なメカニズムの分析

3-6. かゆみを発生させた血清 IgG による生化学的なメカニズムの分析

マウス皮膚のかゆみを発生させたかゆみを発生させた血清 IgG による生化学的なメカニズムの分析の結果を Fig. 7 に示す。①かゆみ+コントロール群に比べて、②かゆみ+榊原温泉源水群③かゆみ+榊原温泉 5 倍群④かゆみ+こしかの温泉 3 倍群⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑦かゆみ+金剛水 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群 9 の改善が見られた。特に①かゆみ+コントロール群に比べて、③かゆみ+榊原温泉 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群に統計学的な有意差が認められ、著しい改善が認められた。

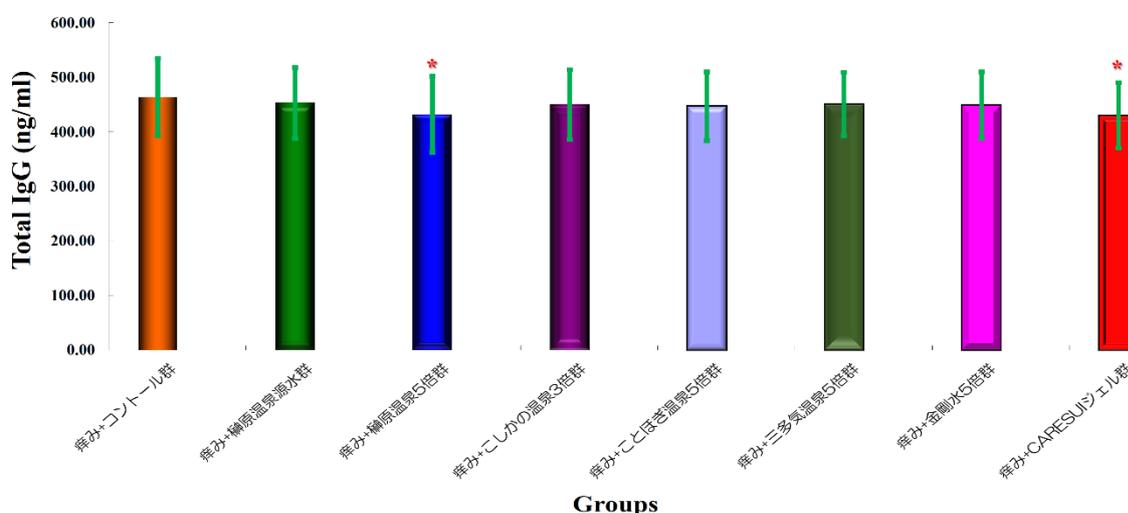


図 7. かゆみを発生させた血清 IgG による生化学的なメカニズムの分析

3-7. かゆみを発生させた IL-31 による生化学的なメカニズムの分析

マウス皮膚のかゆみを発生させたかゆみを発生させた IL-31 による生化学的なメカニズムの分析の結果を Fig. 8 に示す。①かゆみ+コントロール群に比べて、②かゆみ+榊原温泉源水群③かゆみ+榊原温泉 5 倍群④かゆみ+こしかの温泉 3 倍群⑤かゆみ+ことほぎ温泉 5 倍群⑥かゆみ+三多気温泉 5 倍群⑦かゆみ+金剛水 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群 9 の改善が見られた。特に①かゆみ+コントロール群に比べて、③かゆみ+榊原温泉 5 倍群⑧かゆみ+CARESUI ジェル群に統計学的な有意差が認められ、著しい改善が認められた。

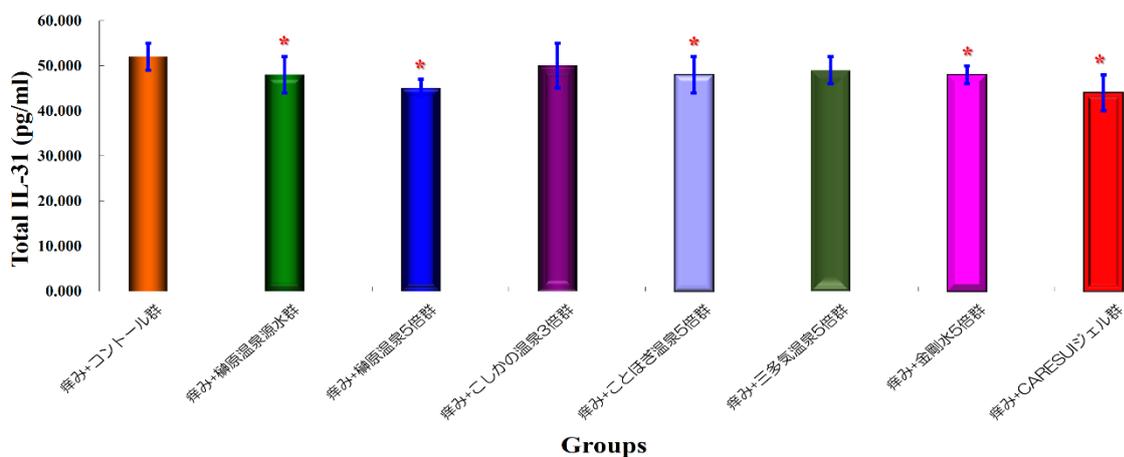


図 8. かゆみを発生させた IL-31 による生化学的なメカニズムの分析

4. 考察

かゆみは、不快な皮膚感覚と定義され、皮膚および一部粘膜に特有の感覚である。様々な皮膚病（例：アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、蕁麻疹、乾癬、アレルギー性疾患など）や全身性疾患、特に内臓疾患（例：慢性腎不全、胆汁うっ滞など）の症状の一つとされています。かゆみは内因性の起痒物質の遊離を促進し、かゆみが増加します。また、かゆみは不快な感覚であるため、生活の質（QOL）の低下につながります。臨床上問題となる皮膚疾患のかゆみに対しては、かゆみのメディエーターとされてきたヒスタミンの受容体（H1 ヒスタミン受容体）拮抗が鎮痒剤として働くとされています。この研究では、天然温泉水が長期使用により抗鎮痒剤としての改善が望まれています¹¹⁻²¹⁾。

アミノ酸 11 個からなるペプチドで、末梢から中枢神経系に広く分布しています。特に、脊髄後角では痛覚情報の伝達に参与しています。アトピー性皮膚炎などの掻痒性皮膚疾患への関与が示唆されています。その機序の一つとして、マスト細胞の脱顆粒によって遊離されたヒスタミンを介した経路が示唆されています³⁶⁻⁴²⁾。マウスにおいても、この研究から掻き動作がかゆみ関連動作として示されましたが、この動作がすべてかゆみに起因する反応かどうかは不明です。そこで、動物における掻き動作がかゆみに起因する反応であるかどうか焦点を当てました。H1 ヒスタミン受容体拮抗およびマスト細胞欠損マウスを用いた研究から、この研究で示された掻き動作誘発にはマスト細胞とヒスタミン系の関与が少ないことが明らかになりました。これらの結果は、これまでに知られていなかったかゆみの発生経路の存在を示唆しています⁴⁴⁻⁴⁷⁾。

即時型アレルギーのかゆみには、IgE マスト細胞系の関与がよく知られています。しかし、アトピー性皮膚炎マウスモデルでは、血清中の IgE 量と掻き動作数が関連することが知られています。

蚊アレルギー性掻痒マウスモデルでは、そのアレルギー性の掻き動作が H1 ヒスタミン受容体拮抗で抑制されないことが報告されています。また、血清中の IgE は非

感作マウスと比較して有意な増加を示さず、むしろ IgG の量が有意に増加しています。マスト細胞を有しないマウス（マスト細胞欠損マウス）でも感作処置を行い、抗原をチャレンジすると、同様の感作処置を行ったマスト細胞を有する健常マウスと同程度の掻き動作が生じます。これらのことから、IgE マスト細胞系以外のアレルギー性のかゆみの発生機序の存在が示唆されます⁴⁵⁻⁴⁷⁾。

最近、一次感覚神経に高親和性 IgG 受容体 RI が発現し、感作状態では、皮膚内の一次感覚神経に抗原が結合し、抗原 IgG 複合体の形成が一次感覚神経を刺激し、さらに神経終末からサブスタンス P が遊離することが明らかにされました⁴⁸⁻⁵⁰⁾。抗原特異的 IgG 産生優位なアレルギー性掻痒マウスでは、抗原刺激により誘発される掻き動作が、NK1 受容体拮抗薬や BLT1 受容体拮抗で抑制されます。このことは、抗原刺激により直接一次感覚神経を刺激してかゆみを起こす経路と、一次感覚神経からのサブスタンス P を介した経路によりアレルギー性のかゆみが生じている可能性を示唆します。アトピー性皮膚炎などの慢性掻痒性皮膚疾患の皮膚では表皮内まで一次感覚神経が伸展していることから掻破による皮膚刺激およびケラチノサイトからの遊離物質に対する感受性の増大などに関与していることが示唆される。このような神経は、特にサブスタンス P やカルシトニン遺伝子関連ペプチド含有神経であることから上記のアレルギー反応と同様に一次感覚神経へのケラチノサイト遊離物質の作用に加え、ケラチノサイトへの一次感覚神経からの遊離物質の作用経路がかゆみの誘発・増大への重要な経路となっている可能性がある^{37, 45, 49)}。

IL-31 の感覚神経への直接作用がかゆみを誘導については、以上の実験結果から、IL-31 は感覚神経に直接作用して、かゆみを誘導していることが初めて実証されました。一方、IL-31 の角化細胞への作用は、少なくとも皮膚炎が起きていないマウスにおいては、かゆみ誘導にほとんど寄与していないことが示唆されました。

従って、この研究により、温泉水は、人のみならず、ペットの健康にさまざまな効果をもたらす可能性がある。以下に、温泉がペットの皮膚病に与える良い効果について期待できる。しかし、温泉の成分や泉質によって、皮膚炎や皮膚病に効果があるものが考えられる。温泉で皮膚を優しくマッサージするように洗うだけでも、皮膚を清潔にし、かゆみやフケを緩和が考えられる。実際に、皮膚病を持つ愛犬の症状を改善した例も報告されている⁴⁷⁻⁵²⁾。

神経疾患を緩和する効果や関節に炎症や痛みがある犬、運動麻痺の症状がある犬には、鎮静効果や浮力作用のある温泉が有効と考えられます。また、温泉水を飲ませることで胃腸機能の低下を改善する効果も期待されます。ただし、ペット専用の温泉を利用する際には温度に気を付けることが重要です。疾患がある場合は獣医師に相談することをおすすめします。温泉は犬の全身を入浴させなくても、手足だけの入浴でも良い効果がありますので、愛犬の健康促進に活用することが考えられます。特に高アルカリ泉の温泉は天然の石鹸効果があり、犬の皮膚表面の余分な皮脂汚れを無理なく洗い落とし、皮膚を清潔に保ちます。さらに、膿皮症や脂漏症といった細菌や真菌性

の皮膚病に対しても効果が期待できます。

犬を温泉施設に入れる際には、以下の条件を満たす必要があります。

1. 狂犬病および混合ワクチンの注射を1年以内に済ませること⁵⁰⁻⁵¹⁾。2. 発情中や妊娠中の犬は入れないこと。3. 伝染病にかかっている犬や、ノミやダニなどの寄生虫に感染している犬は入れないこと。

温泉に入ることは犬にとって、リラックス効果やストレス解消に繋がります。さらに、神経痛や皮膚疾患にも効果があります(図9参照)⁴⁸⁻⁵²⁾。

掻痒性皮膚疾患の表皮ケラチノサイトを介した痒みのメカニズム

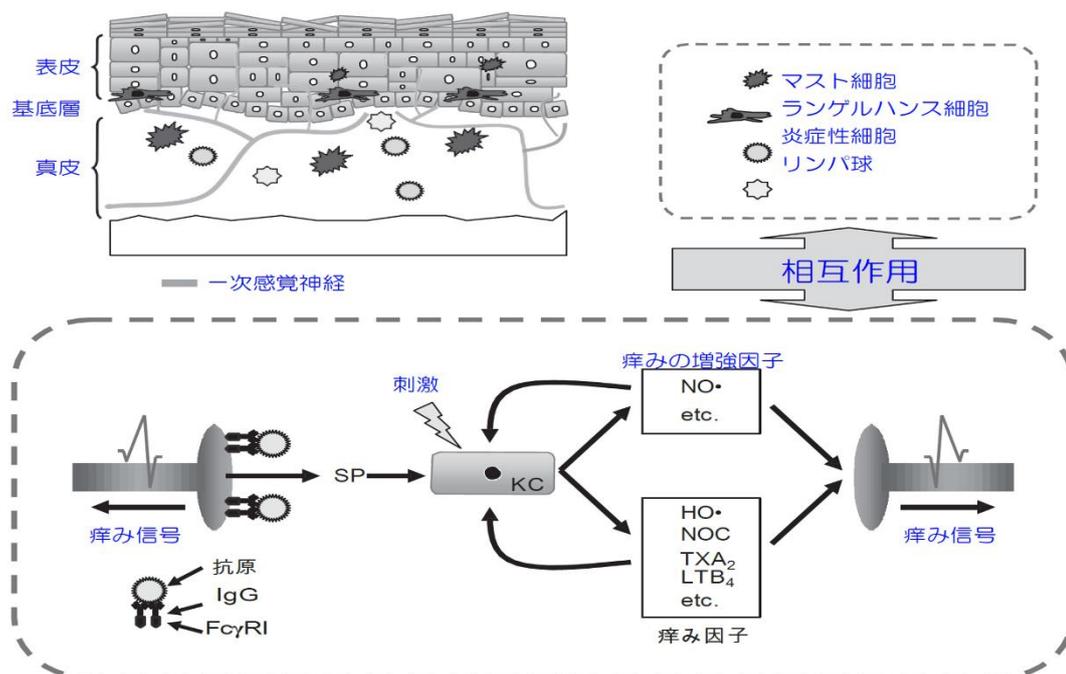


図9. 掻痒性皮膚疾患の表皮ケラチノサイトを介したかゆみの発生機序

(KC:ケラチノサイト, SP:サブスタンスP, NO:一酸化窒素, HO \cdot :ヒドロキシラジカル, NOC:ノシセプチン, TXA $_2$:トロンボキサン A $_2$, LTB $_4$:ロイコトリエンB $_4$)

この研究では、マウスを用いたかゆみ研究の成果を基に、マスト細胞ではなく最適な温泉水に着目した経緯と、最適な温泉水がかゆみ発生への関与についての研究を行った。マウスの皮膚のかゆみに対して、以下の各群において比較を行った。① かゆみ + コントロール群 ② かゆみ + 榊原温泉源水群 ③ かゆみ + 榊原温泉5倍群 ④ かゆみ + こしかの温泉3倍群 ⑤ かゆみ + ことほぎ温泉5倍群 ⑥ かゆみ + 三多気温泉5倍群 ⑦ かゆみ + 金剛水5倍群 ⑧ かゆみ + CARESUI ジェル群その結果、特に③ かゆみ + 榊原温泉5倍群と⑧ かゆみ + CARESUI ジェル群において、① かゆみ + コントロール群に比べて有意な改善が認められた。

参考文献

1. Sugiura H, et al. Arch Dermatol Res. 1997;289:125-131.
2. Tobin D, et al. J Allergy Clin Immunol. 1992;90:613-622.

3. Urashima R, et al. *Virchows Arch*. 1998;432:363-370.
4. Koizumi H, et al. *Exp Dermatol*. 1994;3:40-44.
5. Staniek V, et al. *Pathobiology*. 1999;67:51-54.
6. Felix R, et al. *Br J Dermatol*. 1975;93:303-312.
7. Andoh T, et al. *J Invest Dermatol*. 2001;117:1621-1626.
8. Arai I, et al. *Eur J Pharmacol*. 2004;505:229-235.
9. Andoh T, et al. *J Invest Dermatol*. 2004;123:196-201.
10. Andoh T, et al. *Eur J Pharmacol*. 1998; 353: 93-96.
11. Yokomizo T, et al. *Nature*. 1997;387:620-624.
12. Yokomizo T, et al. *J Exp Med*. 2000;192:421-432.
13. Prenow B. *Pharmacol Rev*. 1983;35:85-141.
14. Wahlgren CF. *J Dermatol*. 1999;26:770-779.
15. Wahlgren CF. *Acta Derm Venereol Suppl*. 1991;165:1-53.
16. Kuraishi Y, et al. *Eur J Pharmacol*. 1995;275:229-233.
17. Kuraishi Y, et al. *Neuroscience*. 1989;30:241-250.
18. Hagermark O, et al. *J Invest Dermatol*. 1978;71:233-235.
19. Kaku H, et al. *Nippon Jinzo Gakkai Shi*. 1990;32:319-326.
20. Heyer G, et al. *Acta Derm Venereol*. 1991;71:291-295.
21. Ellis CN, et al. *J Am Acad Dermatol*. 1993;29:438-442.
22. Fjellner B, et al. *Acta Derm Venereol*. 1981;61:245-250.
23. Ebertz JM, et al. *J Invest Dermatol*. 1987;88:682-685.
24. Andoh T, et al. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;286:1140-1145.
25. Bergasa NV, et al. *Gastroenterology*. 1992;102:544-549.
26. Bernstein JE, et al. *Arch Dermatol*. 1979;115:1366-1367.
27. Andoh T, et al. *Mol Brain Res*. 2005;137:263-266.
28. Johaneck LM, et al. *J Neurosci*. 2007;27:7490-7497.
29. Andoh T, et al. *Mol Brain Res*. 1996;35:329-332.
30. Heyer G, et al. *Acta Derm Venereol*. 1995;75:348-352.
31. Simone DA, et al. *Somatosens Mot Res*. 1991;8:271-279.
32. Andoh T, et al. *Acta Derm Venereol*. 2005;85:475.
33. Yamaguchi T, et al. *J Dermatol Sci*. 2001;25:20-28.
34. Ohtsuka E, et al. *Jpn J Pharmacol*. 2001;86:97-105.
35. Andoh T, et al. *FASEB J*. 2004;18:182-184.
36. Andoh T, et al. *Soc Neurosci Abs*. 2007;183:13.
37. Imayama S, et al. *Lancet*. 1995;346:1559.
38. Groneberg DA, et al. *Allergy*. 2005;60:90-97.
39. Ui H, et al. *Eur J Pharmacol*. 2006;530:172-178.
40. Steinhoff M, et al. *J Neurosci*. 2003;23:6176-6180.

41. Steinhoff M, et al. *Exp Dermatol*. 1999;8:282-294.
42. Andoh T, et al. *Eur J Pharmacol*. 2000;406:149-152.
43. Andoh T, et al. *Eur J Pharmacol*. 2006;547:59-64.
44. Andoh T, et al. *J Invest Dermatol*. 2007;127:2042-2047.
45. Palmer RM, et al. *Nature*. 1988;333:664-666.
46. Laskin JD, et al. *Trends Endocrinol Metab*. 1994;5:377-382.
47. Moncada S, et al. *Pharmacol Rev*. 1991;43:109-142.
48. Ormerod AD, et al. *Arch Dermatol Res*. 1998;290:3-8.
49. Taniuchi S, et al. *Allergy*. 2001;56:693-695.
50. Bull HA, et al. *J Invest Dermatol*. 1996;106:655-660.
51. Andoh T, et al. *Br J Pharmacol*. 2003;138:202-208.
52. Andoh T, et al. *J Pharmacol Sci*. 2004;94:207-210.