

Cry j I 腹腔感作ラットにおける鼻腔, 喉頭, 気管粘膜浸潤細胞について

名古屋市衛生研究所

石井譲治 小川 保

藤田保健衛生大学医学部耳鼻咽喉科学教室

内藤健晴 宮田 昌 石原正健

馬場 錬 妹尾淑郎 岩田重信

磐南市民病院耳鼻咽喉科

横山尚樹

スギ花粉主要抗原の一つである Cry j I をラット腹腔内注射にて感作し, さらに Cry j I を点鼻, その6時間後の鼻腔, 喉頭, 気管粘膜に浸潤している好酸球およびリンパ球を観察し比較検討した。ラットは Brown Norway のオス13匹を用いた。5匹をコントロール群, 8匹に Cry j I 10 μ g とアルミニウムゲル4.5mg を0.4ml 蒸留水に溶解し, 12日の間隔をあけ2回腹腔内注射を行った。血清 Cry j I 特異 IgE 抗体価は IgE-capture ELISA 法にて測定した。鼻粘膜, 喉頭, 気管は Cry j I 溶液点鼻6時間後に採取した。血清 Cry j I 特異 IgE 抗体価は感作群307.1 $\pm$ 185.3任意 U/ml, コントロール群0.0 $\pm$ 0.0任意 U/ml で感作群において有意の上昇 ($p < 0.01$) を認めた。

浸潤細胞について鼻粘膜では好酸球 ($p < 0.01$), リンパ球 ($p < 0.05$) とともに感作群に有意に多く浸潤していた。喉頭では感作群で好酸球浸潤が有意に多かった ($p < 0.01$) が, リンパ球は両群で有意差は見られなかった。気管では両群とも好酸球, リンパ球ともにほとんど見られなかった。Cry j I 腹腔感作ラットは鼻腔及び喉頭においてアレルギー性病変を起し得るものと考えた。

Key words: Cry j I — eosinophil — laryngeal allergy — pollinosis — rat

はじめに

Cry j I はスギ花粉中に含まれる主要抗原の一つであり, 花粉の最表面に多く存在している¹⁾。スギ花粉が鼻腔より侵入し, Cry j I が粘膜内に吸収されるとスギ花粉症患者においては典型的な I 型アレルギー反応が惹起される。その症状は, 花粉飛散時期に一致して発症し, 鼻症状, 眼症状のみならず咽喉頭症状, 喘息様症状, 皮膚炎症状なども呈することが知られている²⁾⁻⁶⁾。中でも咽喉頭症状に関しては最近注目されている喉頭アレルギーの概念からその確認が重要となってきた。そこで今回我々は, スギ花粉より精製した Cry j I を IgE 抗体高応答性を示す BN ラット (Brown Norway rat) に腹腔内感作を行い, 鼻腔, 喉頭, 気管粘膜における浸潤細胞を観察し, これらの臓器におい

てアレルギー性病変が起り得るかどうかを検討したので報告する。

材料及び方法

動物は6週齢の BN ラット雄を13匹, 日本チャールズリバース社より入手し実験に用いた。スギ花粉主要アレルゲン (Cry j I) は, 澤谷ら⁷⁾の報告にしたがって精製した。免疫スケジュールについては5匹をコントロール群とし, 残り8匹に Cry j I 10 μ g と水酸化アルミニウムゲル (アラム・アジュバント: Pierce 社) 4.5mg を0.4ml の蒸留水に溶解し, ラット腹腔内に12日間の間隔をあけ2回免疫した (Fig. 1)。2回目の注射から7日後に採血を行い, ラット血清 Cry j I 特異 IgE 抗体価を測定した。

ラット血清 Cry j I 特異 IgE 抗体価の測定は Fig. 2 に示したごとく, マイクロプレートに carbonate-

Received: June 4, 1997

Accepted: October 14, 1997

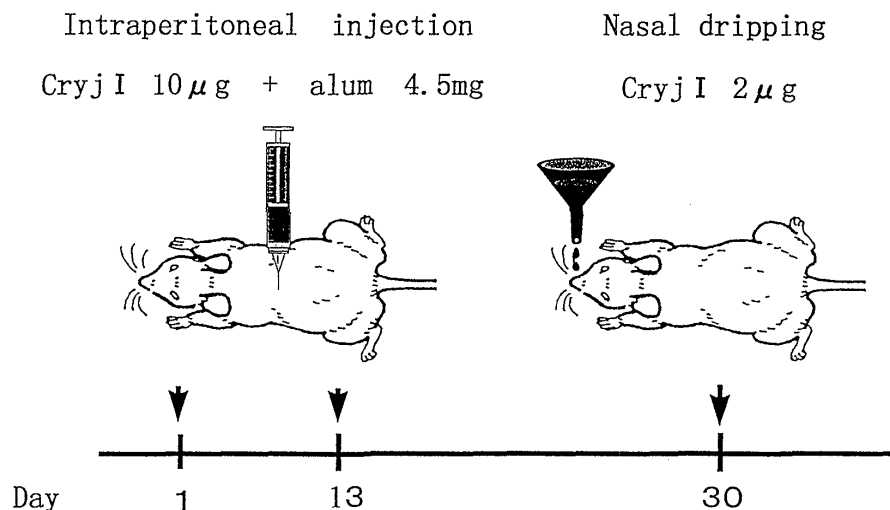


Fig. 1. Time course of sensitization in rat.

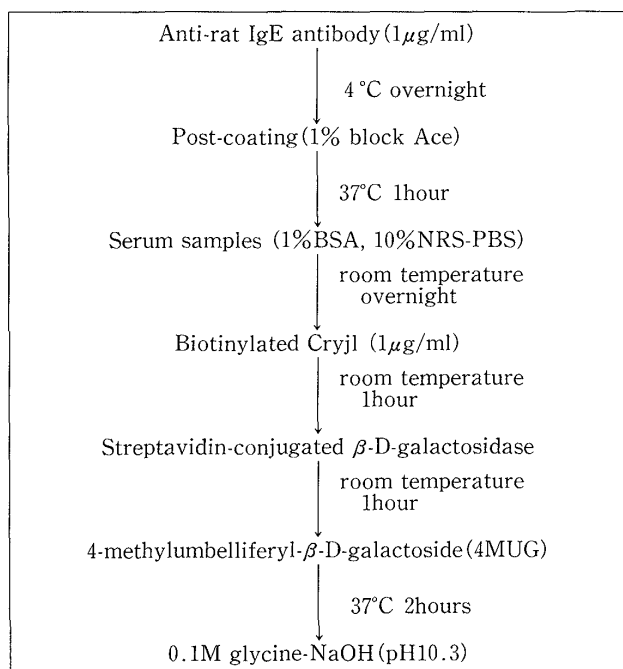


Fig. 2. Procedure for the determination of rat-specific IgE antibody. (Reverse IgE-capture ELISA)

bicarbonate 緩衝液 (pH 9.5) で希釈したモノクローナル抗ラット IgE 抗体 100 μ l を入れ、4°C に一晩放置し固相化させた。洗浄後、post coating として 1% block Ace を加え 37°C 1 時間反応させた。次に 1% BSA と 10% NRS (ラット正常血清) を含む PBS で希釈した血清を加え室温で一晩反応させた。洗浄後ビオチン標識 Cryj I を加え 1 時間室温で反応させた。洗浄後 β -D-galactosidase 標識ストレプトアビジン 100 μ l を加え、室温 1 時間反応させた。次に 0.2mM 4-methyl-

umbelliferyl- β -D-galactoside 溶液 100 μ l を加え、37°C で 2 時間反応、0.1M Glycine-NaOH により反応を停止させた。反応産物 4-methylumbelliferone の蛍光強度を蛍光用マイクロプレート (コロナ MTP-100F) で測定した。

Reverse IgE-capture ELISA 法における特異 IgE 抗体価測定の単位 (U/ml, 任意ユニット) は Cryj I 10 μ g を 4 回 BN ラットの腹腔内に注射し、抗体価が上昇した 5 匹のラット血清をプールして、さらに 8 倍希釈した値を 100 任意 U/ml として定めたものである。

標本の作製はラットをエーテル麻酔下に放血させ、鼻、喉頭、気管の各臓器を採取し、10%ホルマリンで固定した。アルコール脱水後パラフィンで包埋、4~5 μ の薄切切片を作製し Hematoxylin-Eosin (H-E) 染色を行った。それぞれの組織は Cryj I 溶液 (100 μ g/ml) を 10 μ g 点鼻した 6 時間後に採取した⁸⁾。

鼻、喉頭、気管各組織に浸潤している好酸球、リンパ球の程度は以下のごとく分類した。

—: 細胞の浸潤がないかあるいはあっても極めて少数。

+: 細胞の浸潤が見られる。

++: 極めて多数の細胞浸潤が見られる。

組織標本の観察は鼻腔は鼻甲介粘膜前後長全般にわたり、喉頭は冠状断大切片全体を、気管は縦方向に 12~15 気管輪を 10×10 倍拡大で全視野にわたり顕鏡した。

特異 IgE 抗体価の有意差検定は U 検定で行い、浸潤細胞の程度の差は χ^2 検定で行った。 $p < 0.05$ を統計学的に有意差ありとした。

Table 1 Serum level of specific IgE antibody to Cry j I in rats

Rats	IgE antibody (U/ml)
Control (n=5)	0.0±0.0
Sensitized (n=8)	307.1±185.3

$p < 0.01$

Table 2 Local accumulation Eosinophils and lymphocytes in the nasal mucosa of Cry j I sensitized rats

Rats	Grade of eosinophil accumulation			χ^2 -test
	—	+	++	
Control	4	1	0	$p < 0.05$
Sensitized	1	2	5	

Rats	Grade of lymphocyte accumulation			χ^2 -test
	—	+	++	
Control rat	5	0	0	$p < 0.01$
Sensitized rat	0	1	7	

— : nil or very small number

+ : small number

++ : great number

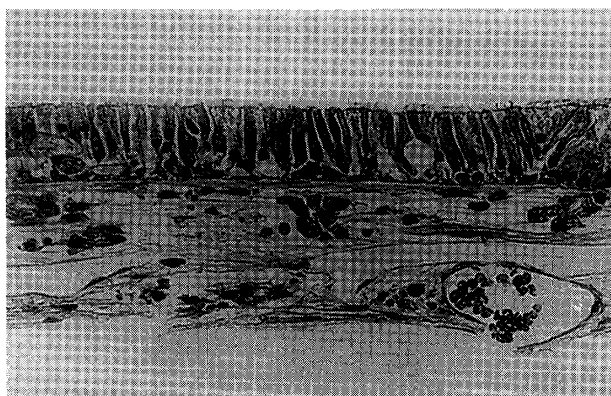


Fig. 3. Eosinophilia was observed in the nasal mucosa of the sensitized rat with Cry j I. (HE staining×200)

結 果

ラット血清 Cry j I 特異 IgE 抗体は感作群307.1±185.3任意 U/ml でコントロール群0.0±0.0任意 U/ml に比し有意の上昇を認めた ($p < 0.01$) (Table 1).

ラット鼻粘膜浸潤好酸球, リンパ球はともに感作群の方が未感作群に比して有意に多かった (好酸球 $p < 0.05$, リンパ球 $p < 0.01$) (Table 2). 感作ラット (Fig.



Fig. 4. Almost normal findings of the nasal mucosa were revealed in the non-sensitized rat. (HE staining×200)

Table 3 Local accumulation of Eosinophils and lymphocytes in the laryngeal mucosa of Cry j I sensitized rats

Rats	Grade of eosinophil accumulation			χ^2 -test
	—	+	++	
Control	4	1	0	$p < 0.01$
Sensitized	0	5	3	

Rats	Grade of lymphocyte accumulation			χ^2 -test
	—	+	++	
Control	0	5	0	NS
Sensitized	0	7	1	

— : nil or very small number

+ : small number

++ : great number

3). 未感作ラット (Fig. 4) の典型的な鼻粘膜病理組織像はそれぞれ Fig. に示したごとくである。

ラット喉頭粘膜浸潤好酸球は感作群の方が有意に多く浸潤していた ($p < 0.01$) が, リンパ球では有意差はみられなかった (Table 3). 感作ラットの典型的な喉頭病理組織像を Fig. 5に示す。

気管粘膜では好酸球, リンパ球ともに感作群と未感作群で, ほとんど浸潤していなかった (Table 4). 感作ラットの気管病理組織像は Fig. 6に示した通りである。

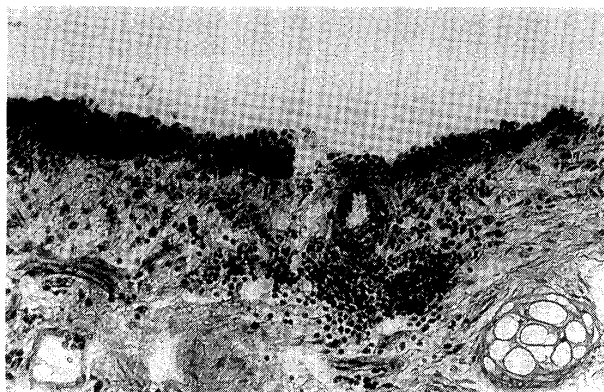


Fig. 5. Marked eosinophilia was shown in the larynx (supraglottic areas) of the sensitized rat with Cry j I. (HE staining $\times 100$)

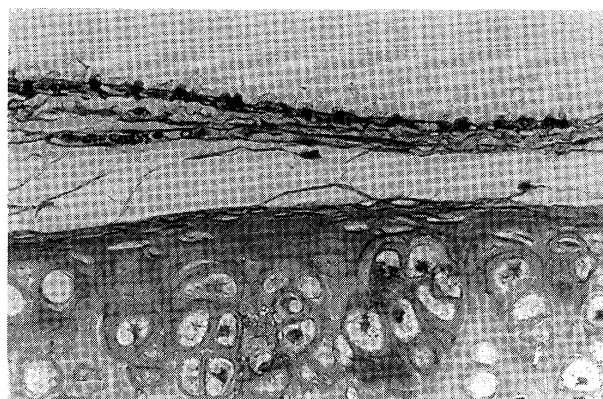


Fig. 6. Almost normal findings of the trachea were demonstrated in the sensitized rat with Cry j I. (HE staining $\times 200$)

Table 4 Local accumulation of Eosinophils and lymphocytes in the tracheal mucosa of Cry j I sensitized rats

Rats	Grade of eosinophil accumulation			χ^2 -test
	-	+	++	
Control	5	0	0	] NS
Sensitized	8	0	0	

Rats	Grade of lymphocyte accumulation			χ^2 -test
	-	+	++	
Control	4	1	0	] NS
Sensitized	5	3	0	

- : nil or very small number

+ : small number

++ : great number

考 察

スギ花粉症の原因となるスギ花粉中の抗原物質は現在13種類が免疫電気泳動によって確認されているが⁹⁾, スギ花粉症患者の大多数が感作されている主要抗原は Cry j I と Cry j II である¹⁰⁾. Cry j I は1983年に Yasueda ら¹¹⁾によって分離, 精製された分子量41-45 KDa, 等電点9.2の塩基性蛋白である. Cry j II は1990に Sakaguchi ら¹²⁾によって報告された分子量37KDa, 等電点9.50の糖蛋白である. 両者の活性について井上¹³⁾は東京都在住のスギ花粉症患者145例の血清中 Cry j I, Cry j II に対する IgE 抗体を調べ, 両方に陽性が92.4%, Cry j I のみ陽性が4.1%, Cry j II のみ陽性が3.4%で, 両者の活性はほぼ同じであるとしている. 一方, 安枝ら¹⁴⁾はスギ花粉エキス (1:1000w/v,

Hollister-Stier) 皮内テスト陽性者の25例のうち Cry j I に対しては24例 (96%) が, Cry j II に対しては19例 (76%) が陽性で, RAST においても Cry j I とスギ粗抗原に対する抗体価の間には高い相関が得られ, Cry j I の方が Cry j II より活性が高いとしている. このように Cry j I と Cry j II の活性の程度については意見の分かれるところであるが, いずれにしても花粉症患者の96%以上は Cry j I に陽性であることから, スギ花粉症の発症には Cry j I が大きく係わっているものと考えられる.

スギ花粉症の動物実験モデルとして今岡ら¹⁵⁾は7系統のラットに Cry j I を水酸化アルミニウムゲルとともに腹腔内免疫し, IgE 抗体高応答性を示すラットの検索を行った. その結果 BN ラットが最も強く IgE 抗体が産生されており, 花粉症の動物モデルに BN ラットは適した系統であると報告した. また彼らは同時にラット血清中のスギ花粉特異 IgE 抗体価の測定法についても検討し, IgE-captureELISA 法は PCA 法よりも10倍感度がすぐれ, 一度に多数検体を測定することが可能であり, 測定時期や実験手技にバラツキが少ないので非常にすぐれた抗原特異的 IgE 抗体測定法であると述べている¹⁵⁾.

我々も鼻や喉頭など臓器の取り扱いや病理標本作製が容易でかつ IgE 抗体高応答性を示すこの BN ラットを動物実験モデルとして用い, IgE-captureELISA 法を Cry j I ラット特異 IgE 抗体価の測定法として採用した.

ヒトアレルギー反応局所への好酸球浸潤は, アレルギー診断基準主要項目の一つにもなっている¹⁶⁾. 好酸球浸潤には肥満細胞由来の様々な好酸球遊走因

子^{17)~19)}や CD4陽性 T リンパ球由来のサイトカイン^{20)~24)}が関与していることは知られている。モルモットを用いた能動感作喘息モデル実験では抗原刺激6時間後の好酸球浸潤が報告されている²⁵⁾²⁶⁾。鼻アレルギー動物モデルについて、増山ら²⁷⁾はハートレー系モルモットにアスカリス抗原とアラムによるブーストを3回行い能動感作させた。DNP-BSA を点鼻し、鼻粘膜組織内への好酸球浸潤を観察したところ抗原刺激6時間後に好酸球浸潤がピークとなり能動感作モデルとしては喘息モデル²⁸⁾とほぼ同じであると報告した。

今回の実験の組織採取にあたって我々は予備実験にて Cry j I 感作 BN ラットに抗原を点鼻し、6時間後に好酸球が鼻粘膜に多数浸潤することを既に確認できていたため、本実験においても抗原点鼻6時間後に各臓器の採取を行うことにした。これらの臓器に浸潤している細胞は組織により均等に分布を示している訳ではなく、偏在的に集積が見られることがあるため、標本の全視野を観察し、判定方法を奥田²⁹⁾が採用している鼻汁中好酸球増多の grade 判定法を応用した。この判定法は10視野平均の細胞カウント数とよく相関することが既に証明されている³⁰⁾。このような客観性の充分ある判定法にもとづき臓器全体を観察した結果、鼻腔及び喉頭では好酸球の浸潤が未感作群より有意に多く認められた。

スギ花粉症患者において、咽喉頭症状（痒痒感、違和感、咽頭痛、咳嗽）を訴えることによく遭遇する。横山ら³¹⁾の報告によるとスギ花粉症患者の49~78%が種々の咽喉頭症状を訴えるとしている。しかし、これらの中にはアレルギー性鼻炎症状における鼻閉の結果口呼吸による乾燥性あるいは感染性咽喉頭炎の症状である可能性も否定できず、スギ花粉によって特異的に起こる喉頭アレルギーなのかどうか論議を呼ぶところである。喉頭は解剖学的、生理学的役割を考慮すると、ヒトにおいて抗原チャレンジによるアレルギー反応を誘発することには非常な危険を伴う。従って動物を用いた基礎の実験は不可欠であるといえる。内藤ら³²⁾はモルモットに ovalbumin (OA) を感作させ、喉頭の組織を観察したところ、好酸球の著明な浸潤及びホルマリン感受性肥満細胞の局在が認められ、病理組織学的に喉頭にてアレルギー炎症を起し得るとしている。さらにそれらの病変が OA 特異的減感作療法で軽減することも報告し、その病変の抗原特異性を明確にした。しかし、この実験だけではスギ花粉によって喉頭アレルギーが発症するという完全な証明には至らない。そ

こで我々はラットを用いスギ花粉主要抗原の一つである Cry j I を感作させた実験を行った結果、喉頭でも鼻腔ほどではないがスギ花粉によってアレルギー性炎症が起き得ることが示唆された。

喉頭でのリンパ球浸潤には感作群と未感作群では有意差はみられず、未感作群においても同程度にリンパ球の浸潤が観察された。この理由については明らかではないが、喉頭と鼻という臓器による相違が一つには考えられる。今回の実験では浸潤リンパ球の subpopulation の検索が行われていないために内容に関する検討は十分することができなかった。

一方、気管では未感作群、感作群ともに好酸球、リンパ球浸潤はほとんど認められなかった。スギ花粉の場合その粒子の大きさ（約30 μ m）から多くは鼻腔粘膜に沈着し、下気道には達し難いと考えられている³³⁾。またモルモットのネブライザー口吸入実験でも、その粒子が喉頭によりやく到達するかしないか位であると報告されている³⁴⁾。今回我々が行ったラットの実験では組織摘出前の Cry j I 点鼻抗原は鼻粘膜でほとんどが吸収され、その到達は喉頭までで、気管には達していない可能性が理由の一つとして考えられた。他方、今回の実験が腹腔感作という全身感作実験を行っていることから、鼻、喉頭や肺とは異なり、気管は感作の標的となり難いという臓器特異性があるのかもしれない。

結 語

スギ花粉主要抗原の一つである Cry j I でラットを腹腔感作し、Cry j I の点鼻6時間後に鼻腔、喉頭および気管の浸潤細胞を観察し以下の成績を得た。

1) 血清 Cry j I 特異 IgE 抗体価は未感作ラット群では検知せず、感作ラット群で有意に上昇し、感作の成立を確認できた。

2) 鼻粘膜内には好酸球、リンパ球ともに未感作群より有意に浸潤していた。

3) 喉頭粘膜内には Cry j I 感作群において好酸球は有意に浸潤していたが、リンパ球では両群において差は見られなかった。

4) 気管粘膜では好酸球、リンパ球ともにほとんど浸潤していなかった。

5) スギ花粉抗原にて鼻腔と同様喉頭でもアレルギー性病変を起し得るものと考えられた。

文 献

- 1) 中村澄夫：スギ花粉におけるアレルゲンの局在—免疫細胞化学的検討。日本花粉学会第32回大会講演要旨集, pp.22(抄録), 1991.
- 2) 雨皿 亮, 坂倉康夫：スギ花粉症の臨床。アレルギーの領域 1, 55-60, 1994.
- 3) 宇佐神篤：花粉症の臨床像。Johns 4, 98-104, 1988.
- 4) 斉藤洋三, 井手 武(著)：花粉症の科学。化学同人, 東京, pp.89-94, 1996.
- 5) 河崎 伸, 滝沢 始：スギ花粉症についての臨床。Modermidia 2, 16-23, 1966.
- 6) 橋口一弘：かぜ症候群と花粉症の違い。薬局 42, 31-36, 1991.
- 7) 澤谷真奈美：スギ花粉アレルゲン Cryj I の免疫学的, 物理学的性質。アレルギー 42, 738-747, 1993.
- 8) Tada, T. and Okumura, K.: Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. *J. Immunol.* 106, 1002-1012, 1971.
- 9) 井手 武：花粉アレルゲンと花粉症までのプロセス。からだの科学 193, 38-42, 1997.
- 10) 佐橋紀男, 高橋裕一, 村山貢司：スギ花粉のすべて。メディカル・ジャーナル社, 東京, pp.76-85, 1995.
- 11) Yasueda, H., Yui, Y., Shimizu, T. and Shida, T.: Isolation and partial characterization of the major allergen from Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) pollen. *J. Allergy Clin. Immunol.* 71, 77-86, 1983.
- 12) Sakaguchi, M., Inoue, S., Taniai, M., Ando, S. and Matuhasi, T.: Identification of the second major allergen of Japanese cedar pollen. *Allergy* 45, 309-312, 1990.
- 13) 井上 栄：スギ花粉症患者におけるスギ花粉主要アレルゲン特異的 IgE 抗体の測定。平成4年度厚生省アレルギー総合研究事業研究報告書, pp.166-168, 1993.
- 14) 安枝 浩：スギ花粉アレルゲンの分析。アレルギーの領域 1, 13-17, 1994.
- 15) 今岡浩一, 阪口雅弘, 井上 栄：スギ花粉アレルゲン免疫ラットにおける IgE 抗体応答。Exp. Anim. 42, 61-65, 1993.
- 16) 牧野莊平 監修：アレルギー疾患治療ガイドライン(1995年改訂版)。ライフサイエンス・メディカ, 東京, pp.8-9, 1995.
- 17) Wardlaw, A.J., Moqbel, R., Cromwell, O. and Kay, A.B.: Platelet activating factor. A potent chemotactic and chemokinetic factor for human eosinophils. *J. Clin. Invest.* 78, 1701-1706, 1986.
- 18) Sehmi, R., Cromwell, O., Taylor, G.W. and Kay, A.B.: Identification of guinea pig eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis as leukotriene-B₄ and 8(s), 15(s)-dihydroxy-5, 9, 11, 13(Z, E, Z, E) eicosatetraenoic acid. *J. Immunol.* 147, 2276-2283, 1991.
- 19) Morita, E., Schroder, J.M. and Christophers, E.: Identification of novel and highly potent eosinophil chemotactic lipid in human eosinophils treated with arachidonic acid. *J. Immunol.* 144, 1893-1900, 1991.
- 20) Rand, T.H., Sibley, D.S., Kornfeld, H. and Weller, P.F.: CD4-mediated stimulation of eosinophils; Lymphocyte chemoattractant factor and other CD4-binding ligands elicit eosinophil migration. *J. Exp. Med.* 173, 1521-1528, 1991.
- 21) Rand, T.H., Silberstein, D.S., Kornfeld, H. and Weller, P.F.: Human eosinophils express functional interleukin 2 receptors. *J. Exp. Invest.* 88, 825-832, 1991.
- 22) Sehmi, R., Wardlaw, A.J., Cromwell, O., Kurihara, K., Waltmann, P., et al.: Interleukin-5 selectively enhances the chemotactic response of eosinophils obtained from normal but not eosinophilic subjects. *Blood* 79, 2952-2959, 1992.
- 23) Wang, J.M., Rambaldi, A., Chen, Z.G., Sander-son, C.J. and Mantovani, A.: Recombinant human interleukin 5 is a selective eosinophil chemoattractant. *Eur. J. Immunol.* 19, 701-705, 1989.
- 24) Kameyoshi, Y., Dorschner, A., Mallet, A.L., Christophers, E. and Schroder, J.M.: Cytokine RANTES related: Trombin-stimulated platelets a potent attractant for human eosinophils. *J. Exp. Med.* 176, 587-592, 1992.
- 25) 湯川龍雄, 寺師義典, 福田 健, 牧野莊平, 細野克彦, 他：モルモット気道アレルギーにおける組織学的研究。1. 同種抗体受身感作モデルにおける単回抗原曝露後の好酸球浸潤と気道形態変化。アレルギー 36, 227-237, 1987.
- 26) 福田 健, 阿久津郁夫, 天下井正弘, 沼尾利郎, 本島新司, 他：モルモット喘息モデルでの2相性好酸球浸潤に対する PAF 拮抗剤と cyclosporin A の効果。アレルギー 39, 548-552, 1990.
- 27) 増山敬祐, 鮫島靖浩, 石川 哮：鼻アレルギーモデル。好酸球。国際医学出版, 東京, pp.129-135, 1991.
- 28) 寺師義典, 湯川龍雄, 寺師 薫, 本島新司, 福田 健, 池森享介, 他：感作モルモットにおける遅発型反応の出現とその発症因子に関する研究。同様抗体受身感作モデルおよび抗原反復吸入能動感作モデルおよび腹腔感作モデルの比較検討。気道過敏性研究の新展開(滝島 任, 宮本昭正 編), 文光堂,

- 東京, pp.192-202, 1989.
- 29) 奥田 稔: 鼻アレルギー診療の実際. 金原出版, 東京, pp.62, 1976.
- 30) 大塚博邦, 奥田 稔, 高橋光明, 宇佐神篤, 打越進: 鼻アレルギー-鼻汁好酸球増多の判定. 耳鼻臨床 71(5), 445-451, 1978.
- 31) 横山尚樹, 内藤健晴, 井畑克郎, 石原正健, 妹尾淑郎, 他: スギ花粉症患者の眼鼻以外の症状について. 第8回東海花粉症懇談会記録集, pp.52-60, 1993.
- 32) 内藤健晴: アナフィラキシーの咽喉頭表現. 医薬の門 33, 181-121, 1993.
- 33) 大塚博邦: 耳鼻咽喉科医が診た花粉症患者. 薬局 4, 21-23, 1991.
- 34) 山口幹夫, 近藤照男, 嶋田高明, 酒巻孝一郎, 小池靖夫: モルモット喉頭粘膜におけるネブイザー粒子の付着性の検討. 喉頭アレルギー研究会記録集, 8, 21, 1996.

LOCAL EOSINOPHILIA OF THE NOSE, THE LARYNX AND THE TRACHEA IN RATS SENSITIZED WITH JAPANESE CEDAR POLLEN

Joji Ishii¹⁾, Tamotsu Ogawa¹⁾, Kensei Naito²⁾, Sho Miyata²⁾,
Masatake Ishihara²⁾, Ren Baba²⁾, Yoshio Senoh²⁾,
Shigenobu Iwata²⁾ and Naoki Yokoyama³⁾

¹⁾Nagoya City Public Health Research Institute

²⁾Department of Otolaryngology, Fujita Health University, School of Medicine

³⁾Department of Otolaryngology, Hekinan Municipal Hospital

Eight Brown Norway rats were immunized twice at days 0 and 13 by intraperitoneal injections of 10 μ g Cry j I, one of major allergen to Japanese cedar pollinosis, mixed with 4.5 mg aluminium hydroxide gel.

Serum level of Anti-Cry j I IgE antibody was detected by the method of ELISA.

Mean value of serum levels of specific IgE to Cry j I in the sensitized rats was significantly higher than that in the non-sensitized five rats ($p < 0.01$).

The grades of eosinophil and lymphocyte accumulation in the nasal mucosa of the sensitized rats were higher than those in the non-sensitized rats respectively ($p < 0.05$, $p < 0.01$). In the laryngeal mucosa, the grade of eosinophilia in the sensitized rats was higher than that in the control ($p < 0.01$), but no significant differences of lymphocyte accumulation in the larynx between the two groups were found.

Only a small number of eosinophil and lymphocyte accumulations in the trachea of the both groups were observed and no significant differences of the grade of inflammatory cells accumulation between the two groups were found. According to the results of this fundamental study, allergic laryngitis in Japanese cedar pollinosis might be originated from Japanese cedar pollen.