

神経ペプチドによる皮膚炎症反応の成立機序とその特異的制御

千葉大学医学部

岩 本 逸 夫

Substance P(SP), a potent proinflammatory peptide which is present in sensory neurons, causes granulocyte (neutrophil and eosinophil) infiltration in mouse skin by inducing mast cell degranulation. Therefore, we determined which mediator from cutaneous mast cells mediates SP-induced granulocyte infiltration in the skin by the use of mediator antagonists. Subcutaneous injection of SP (10^{-7} – 10^{-8} M) caused granulocyte infiltration in the skin of BALB/c mice in a time- and concentration-dependent fashion. Pretreatment with the LTB_4 antagonist decreased SP-induced neutrophil and eosinophil infiltration in mouse skin at 6h to the same extent that an inhibitor of mast cell degranulation disodium cromoglycate decrease those responses. However, pretreatment with the PAF antagonist affected neither SP-induced neutrophil nor eosinophil infiltration at 6h. A LTC_4/D_4 antagonist and a histamine H_1 antagonist chlorpheniramine had no effect on the granulocyte infiltration, either. The LTB_4 antagonist also decreased SP-induced neutrophil, but not eosinophil, infiltration in mouse skin at 24h. Second, we determined whether SP increases the expression of an adhesion molecule ICAM-1 on human vascular endothelial cells. The amount of ICAM-1 on human umbilical vein-derived endothelial cells (HUVEC) was measured by a cell ELISA assay using an anti-ICAM-1 monoclonal antibody. SP (10^{-8} M) increased ICAM-1 expression on HUVEC in a time-dependent fashion, reaching a maximum at 16h. The amount of ICAM-1 on HUVEC was increased by 2.2-fold in the presence of SP (10^{-8} M), the potency of which was the same as that of IL-1 β (10ng/ml). The C-terminal peptide SP_{1-11} also increased ICAM-1 expression on HUVEC, whereas the N-terminal peptide SP_{1-9} was inactive. Cycloheximide (0.5mM) inhibited the increase in SP-induced ICAM-1 expression, indicating that SP induces the synthesis of ICAM-1 molecule. In addition, HUVEC were found to have high affinity SP binding sites ($K_d=0.69$ nM, $B_{max}=1.6 \times 10^4$ sites/cell). We conclude that LTB_4 is a major mast cell-derived chemotactic mediator for initiating SP-induced neutrophil and eosinophil infiltration in mouse skin and that SP increases the expression of ICAM-1 on human vascular endothelial cells.

1. 緒 言

各種炎症性皮膚疾患の成立には免疫学的機作の関与が示されている。最近神経ペプチドが免疫反応の増幅・調節および炎症反応の惹起に深く関与していることが明らかにされてきた。とくにサブ

スタンスPをはじめとする感覚神経ペプチドは強い炎症惹起作用を有し、種々の物理的あるいは化学的刺激により神経終末から遊離すると、皮膚の血管透過性亢進および顆粒球浸潤を惹起する。したがって、神経性炎症の成立機序およびその特異的制御機構を明らかにすることは、各種炎症性皮膚疾患の成因と治療の解明に重要と考えられる。すなわち、本研究の目的は、

- 1) 神経ペプチドによるマウス皮膚炎症反応とくに顆粒球浸潤の機序を明らかにする。とくに、顆粒球遊走に関与する肥満細胞由来のケミカルメディエーターの同定と血管内皮細胞活性化の関与の有無を明らかにする。

Role of neuropeptides in neurogenic inflammation and its regulation



Itsuo Iwamoto

School of Medicine
Chiba University

2) 神経ペプチドによる血管内皮細胞活性化の機序を明らかにする。とくに、神経ペプチドが血管内皮細胞上の接着分子の発現に関与しているか否かを明らかにする。また神経ペプチドの血管内皮細胞に対する増殖作用の有無を検討する。以上から皮膚における神経ペプチドによる炎症反応の機序およびその制御機構を明らかにする。

2. 実験

2.1 マウス皮膚における神経性炎症モデルの解析

2.1.1 神経ペプチドによる顆粒球浸潤の機序
皮膚における神経性炎症の実験モデルとして、マウス皮膚のサブスタンス P (SP) による顆粒球浸潤を Lawman らの方法を用い解析した¹⁾。すなわち、まず BALB/C マウス左側腹部に 0.9 ml の air を皮下注して air bleb を作製し、SP (10^{-5} M) 0.1 ml を皮下注した。対照としては PBS 0.1 ml を皮下注した。6 あるいは 24 時間後にマウスを致死させ、air bleb の部分を切り出してスライドグラスの上に標本作製し、Wright-Giemsa 染色を行った。400 倍にて鏡検し、任意の 5 視野の好中球および好酸球の総数を求めた。SP による顆粒球浸潤における皮膚肥満細胞および血管内皮細胞の役割を明らかにするため、SP の N 末端ペプチドと C 末端ペプチドを用い顆粒球浸潤、肥満細胞脱顆粒および血管透過性亢進を検討した。

2.1.2 各種メディエーター拮抗剤の効果

SP によるマウス皮膚顆粒球浸潤が肥満細胞依存性か否かを調べるため、肥満細胞脱顆粒抑制薬 disodium cromoglycate (DSCG)²⁾ の効果を検討した。すなわち、DSCG ($100 \mu\text{g}/\text{ml}$) あるいは PBS を SP (10^{-5} M) とともにマウスに皮下投与し (総量 0.1 ml) 6 時間後および 24 時間後の皮膚顆粒球浸潤を調べた。

SP によるマウス皮膚顆粒球浸潤の惹起に LTB_4 が関与しているか否かを調べるため、 LTB_4 特異

的拮抗剤 ONO-4057³⁾ の効果を検討した。

ONO-4057 ($20 \mu\text{g}/\text{g}$) は SP (10^{-5} M) 皮下投与 30 分前にマウス腹腔内に前投与し、SP 皮下投与 6 時間後の顆粒球浸潤を調べた。また ONO-4057 ($20 \mu\text{g}/\text{g}$) を SP 皮下投与 30 分前および 12 時間後の 2 回腹腔内投与し、SP 皮下投与 24 時間後の顆粒球浸潤を調べた。

2.2 皮膚神経性炎症における血管内皮細胞活性化の役割

SP による血管内皮細胞活性化の機序をヒト培養内皮細胞を用い検討した。

- 1) 血管内皮細胞上の SP 受容体の性状およびサブタイプを 3H-SP による結合実験により検討した。
- 2) SP が ICAM-1 をはじめとする血管内皮細胞上の接着分子の発現を誘導するか否かをモノクローナル抗体を用いた免疫細胞学的方法により検討した。
- 3) SP が血管内皮細胞の増殖因子であるか否かを 3H-TdR の取り込みにより検討した。

3. 結果

3.1 サブスタンス P によるマウス皮膚顆粒球浸潤の機序

SP (10^{-8} – 10^{-5} M) 皮下投与は 10^{-7} M より用量依存性に好中球および好酸球浸潤を惹起した。(好中球; 7.2 ± 2.6 vs $37.3 \pm 5.0/5$ 視野、PBS vs SP 10^{-7} M、平均 $\pm$ SD. 好酸球; 4.1 ± 2.0 vs $10.4 \pm 2.4/5$ 視野、PBS vs SP 10^{-7} M、 $P < 0.005$ 、 $n =$ 各 5 匹)。その際 SP 10^{-7} M より用量依存性の肥満細胞の脱顆粒が認められた (Fig. 1)。

次にマウス皮膚における顆粒球浸潤が SP の N 末端ペプチドまたは C 末端ペプチドのどちらによって惹起されているか調べるため、N 末端ペプチド SP_{1-4} と SP_{1-9} および C 末端ペプチド SP_{4-11} と SP_{6-11} 各々を皮下投与して顆粒球浸潤

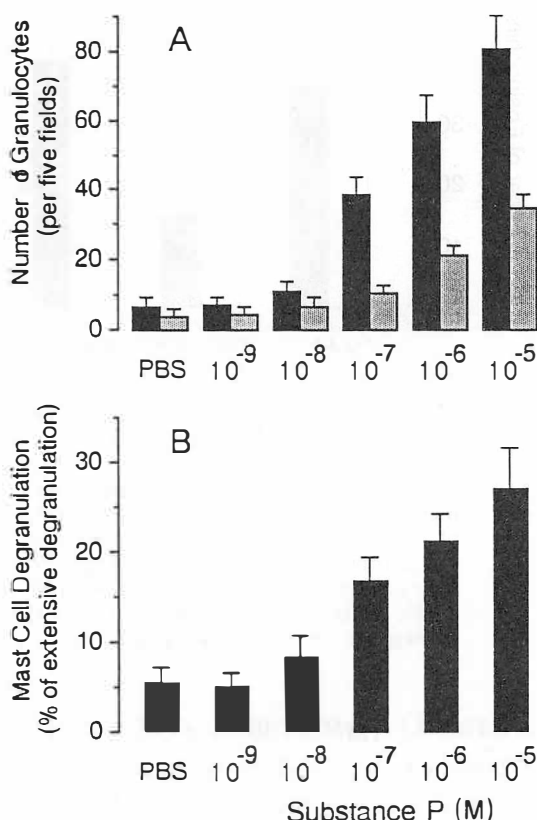


Fig.1. Concentration-dependent substance P-induced granulocyte infiltration (A) and mast cell degranulation (B) in mouse skin.

The granulocyte infiltration (neutrophils; solid columns and eosinophils; stippled columns) and mast cell degranulation were examined at 6h after the subcutaneous injections of substance P (10^{-9} – 10^{-5} M). Data are means $\pm$ SD for 5 to 8 mice at each concentration.

の有無を検討した。N末端ペプチドSP₁₋₄ (10^{-6} – 10^{-4} M) は 10^{-4} Mまでで有意な顆粒球浸潤を惹起しなかった (n=5)。しかしSP₁₋₉ (10^{-6} – 10^{-4} M) は 10^{-5} Mより有意な好中球浸潤を惹起した (6.9 ± 3.3 vs 26.0 ± 3.5 と $38.3 \pm 3.3/5$ 視野、PBS vs SP₁₋₉ 10^{-5} M と 10^{-4} M、 $P < 0.001$ 、n=5)。SP₁₋₉ は 10^{-5} Mより好酸球浸潤も惹起した (3.1 ± 1.5 vs 9.0 ± 1.9 と $14.0 \pm 2.3/5$ 視野、PBS vs SP₁₋₉ 10^{-5} M と 10^{-4} M、 $P < 0.005$ 、n=5)。C末端ペプチドSP₄₋₁₁ (10^{-6} – 10^{-4} M)

とSP₆₋₁₁ (10^{-6} – 10^{-4} M) はいずれも 10^{-4} Mまで有意な顆粒球浸潤を引き起こさなかった (n=5)。肥満細胞脱顆粒惹起物質である compound 48/80 (0.5 – $50 \mu\text{g/ml}$) の皮下投与は用量依存性に好中球および好酸球浸潤を惹起した (n=5)。

SPフラグメント皮下投与によるマウス皮膚肥満細胞の脱顆粒を比較検討すると、N末端ペプチドのSP₁₋₄ は有意の肥満細胞脱顆粒を引き起こさなかったが、SP₁₋₉ (10^{-5} – 10^{-4} M) は用量依存性に肥満細胞脱顆粒を引き起こした。しかし、C末端ペプチドSP₄₋₁₁ とSP₆₋₁₁ いずれも有意の肥満細胞脱顆粒を惹起しなかった。Compound 48/80 (0.5 – $50 \mu\text{g/ml}$) は用量依存性に肥満細胞脱顆粒を惹起した。

LTB₄拮抗剤ONO-4057はSP皮下投与6時間後のマウス皮膚好中球および好酸球浸潤を抑制した。まず肥満細胞脱顆粒抑制薬DSCG ($10 \mu\text{g}$) 投与はSP (10^{-5} M) 皮下投与6時間後の好中球浸潤を85.7%抑制した (74.8 ± 7.7 vs 16.1 ± 3.5 個/5視野、SP vs SP + DSCG、 $P < 0.001$ 、n=6匹) (Tab.1)。ONO-4057前投与 ($20 \mu\text{g/g}$) はSP (10^{-5} M) 皮下投与6時間後の好中球浸潤を74.1%抑制した (75.4 ± 7.3 vs 24.6 ± 3.6 個/5視野、SP vs SP + ONO-4057、 $P < 0.001$ 、n=6) (Fig.2)。

同様にDSCG ($10 \mu\text{g}$) 投与はSP (10^{-5} M) 皮下投与による6時間後のマウス皮膚好酸球

Table 1 Effect of Disodium Cromoglycate on Substance P-induced Granulocyte Infiltration in Mouse Skin

Subcutaneous Injections	Number of Granulocytes (per five fields) ^a	
	Neutrophils	Eosinophils
PBS	6.3 ± 2.8	4.4 ± 1.8
Substance P	74.8 ± 7.7	41.3 ± 4.5
Substance P + DSCG	$16.1 \pm 3.5^*$	$13.6 \pm 1.8^*$

^a The number of granulocytes infiltrating into the skin of BALB/c mice was counted at a magnification of $\times 400$ at 6 h after the subcutaneous injections of substance P (10^{-5} M) in the absence or presence of disodium cromoglycate (DSCG; $100 \mu\text{g/ml}$).

Data are mean $\pm$ SD for six mice.

* significantly different from the corresponding mean value of substance P alone, $p < 0.001$.

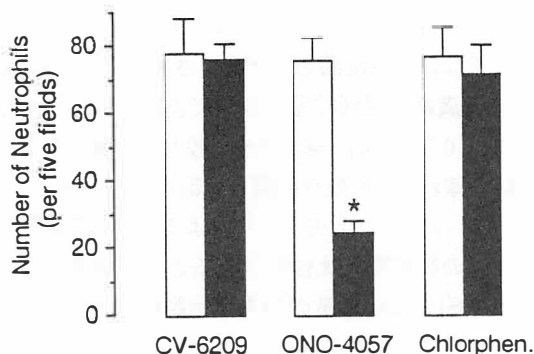


Fig.2. Effect of mediator antagonists on substance P-induced neutrophil infiltration in mouse skin.

Mice were preinjected intraperitoneally with a mediator antagonist (solid columns) or its vehicle (open columns), and the neutrophil infiltration was examined at 6h after the subcutaneous injection of substance P (10^{-5} M). CV-6209; a PAF antagonist, ONO-4057; a LTB_4 antagonist, and Chlorphen.; a histamine H_1 antagonist. Data are means $\pm$ SD for 5 to 6 mice. * significantly different from the mean value of the corresponding vehicle, $p < 0.001$.

浸潤を75.1%抑制した (41.3 ± 4.5 vs 13.6 ± 1.8 個/5視野、SP vs SP + DSCG、 $P < 0.001$ 、 $n = 6$) (Tab.1)。ONO-4057前投与 (20 μ g/g) は同好酸球浸潤を71.3%抑制した (4.1 ± 4.6 vs 15.1 ± 2.1 個/5視野、SP vs SP + ONO-4057、 $P < 0.001$ 、 $n = 6$) (Fig.3)。

さらにDSCG (10 μ g) とONO-4057 (20 μ g/g、2回) はSP (10^{-5} M) 皮下投与24時間後の好中球浸潤を各々40.1%と34.4%抑制した ($P < 0.001$ と $P < 0.002$ 、 $n = 4$) (Fig.4)。DSCG (10 μ g) は同好酸球浸潤を34.4%抑制したが、($P < 0.001$ 、 $n = 4$)、ONO-4057 (20 μ g/g、2回) は有意には抑制しなかった (Fig.4)。

3.2 サブスタンスPによる血管内皮細胞の接着分子の発現と増殖

次にSPが血管内皮細胞上の接着分子の発現を調節しているか否かをヒト培養血管内皮細胞を用いて検討した。すなわち顆粒球が組織へ浸潤する

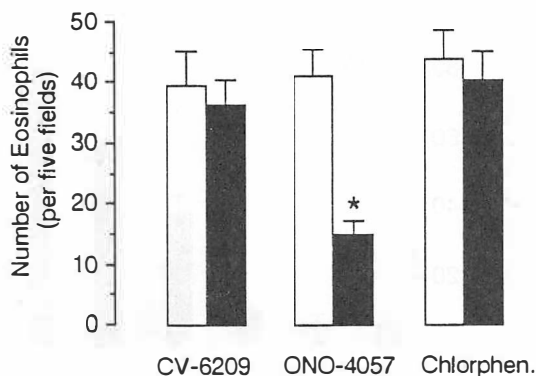


Fig.3. Effect of mediator antagonists on substance P-induced eosinophil infiltration in mouse skin.

The eosinophil infiltration was examined at 6h after the subcutaneous injection of substance P. Experimental protocols and symbols are the same as in Fig.3. Data are means $\pm$ SD for 5 to 6 mice. * significantly different from the mean value of the corresponding vehicle, $p < 0.001$.

には好中球と好酸球上の接着分子とそれに対応する血管内皮細胞上の接着分子間の特異的結合を介しており、好中球浸潤ではICAM-1/LFA-1・Mac-1が、好酸球浸潤ではそれに加えてVCAM/VLA-4が重要と考えられる。

そこでSPによるヒト培養血管内皮細胞 (HUVEC) 上のICAM-1の発現を新しく開発

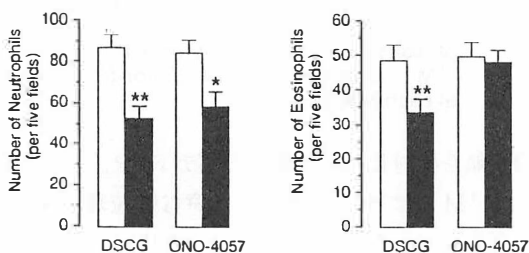


Fig.4. Effect of disodium cromoglycate and of a LTB_4 antagonist ONO-4057 on substance P-induced granulocyte infiltration in mouse skin at 24h.

The granulocyte infiltration was examined at 24h after the subcutaneous injection of substance P (10^{-5} M). Data are means $\pm$ SD for 4 mice. ** significantly different from the mean value of the corresponding vehicle, $p < 0.002$, * $p < 0.001$.

した抗ICAM-1モノクローナル抗体を用いた cell ELISA 法にて行った (Fig.5)。まず HUVEC 上の ICAM-1 は無刺激でも中等度発現していた。SP 添加後の HUVEC 上の ICAM-1 量を経時的に調べると、4 時間後より増加し 16 時間で降はばプラトーとなった (Fig.6)⁵⁾。また SP 10^{-9} M の低濃度から ICAM-1 発現を増加させ、SP 10^{-8} – 10^{-7} M で最大となった (Fig.7)⁵⁾。さらに SP の C 末端ペプチドと N 末端ペプチドで ICAM-1 発現への効果を検討すると、C 末端ペプチドに活性があり N 末端ペプチドは効果がなかった⁵⁾。またこの SP による HUVEC 上の ICAM-1 発現増加が新たな蛋白合成によるものか否かを検討したところ、この ICAM-1 の発現増加はシクロヘキシミドにより完全に抑制された⁵⁾。以上から SP は血管内皮細胞を直接刺激し、ICAM-1 合成を増加させることを示している。しかし SP は HUVEC 上の VCAM-1 の発現は誘導しなかった。

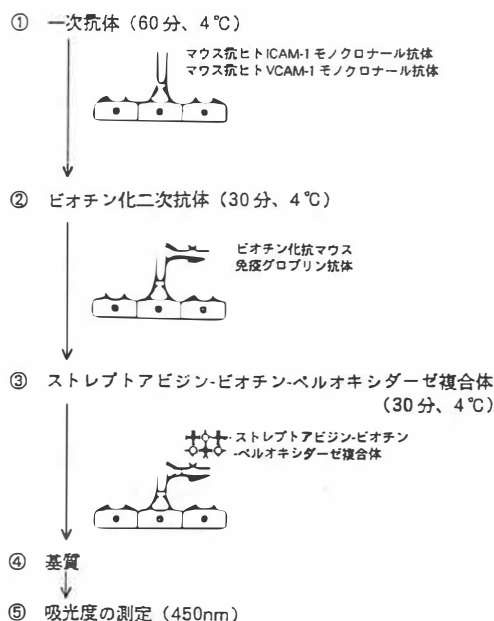


Fig.5. Measurement of ICAM-1 on human umbilical vein-derived endothelial cells (HUVEC) by a cell ELISA assay using an anti-ICAM-1 monoclonal antibody

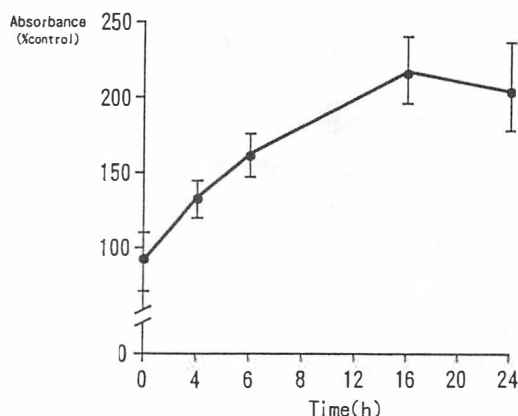


Fig.6. Time course of substance P-induced ICAM-1 expression on HUVEC. HUVEC were stimulated with SP (10^{-8} M) at 37°C for 4 to 24h. The amount of ICAM-1 on HUVEC was measured by a cell ELISA and was expressed as % of the absorbance in unstimulated HUVEC.

さらに 3 H-SP を使った結合実験から HUVEC 上には NK-1 型の高親和性 SP 受容体が存在することが判明した ($K_d=0.69$ nM、 $B_{max}=1.6 \times 10^4$ /細胞)。また SP (10^{-9} – 10^{-6} M) を添加して HUVEC を培養すると、非添加群に比し 2～2.5 倍細胞数が増加した。

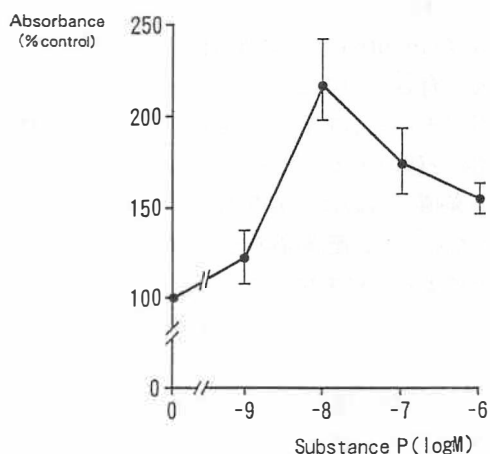


Fig.7. Dose-response curve of substance P-induced ICAM-1 expression on HUVEC. HUVEC were stimulated with SP (10^{-9} – 10^{-5} M) at 37°C for 16h.

4. 考 案

今回の研究でSPによるマウス皮膚顆粒球浸潤はそのN末端ペプチド依存性に惹起されると考えられた。すなわち、SPのN末端ペプチドSP₁₋₉のBALB/Cマウスへの皮下投与は用量依存性に好中球および好酸球浸潤を惹起し、同時に肥満細胞脱顆粒も惹起した。しかし、C末端ペプチドSP₄₋₁₁とSP₆₋₁₁の皮下投与は有意な顆粒球浸潤を惹起せず、また肥満細胞脱顆粒も認められなかった。

SP皮下投与によるマウス皮膚顆粒球浸潤は、肥満細胞欠損マウスでは有意の顆粒球浸潤が起らないことから、肥満細胞依存性であることが示されている^{6, 7)}。今回の結果であるN末端ペプチドSP₁₋₉がマウス皮膚の顆粒球浸潤と肥満細胞脱顆粒を引き起こすことは、*in vitro*の実験系でN末端ペプチドがラットなどの肥満細胞の脱顆粒を惹起すること^{8, 9)}と一致する。またC末端ペプチドSP₄₋₁₁とSP₆₋₁₁が有意な顆粒球浸潤を惹起しなかったことは、これらが*in vitro*で肥満細胞脱顆粒を引き起こさないこと^{8, 9)}と一致する。なお、同じSPのN末端ペプチドでもSP₁₋₄が顆粒球浸潤を惹起しなかったことはSP₁₋₄が*in vitro*で肥満細胞脱顆粒惹起作用をほとんど有さないこと⁸⁾と矛盾しない。今回N末端ペプチドとしてSP₁₋₉を用いた主な理由は、C末端の2個のアミノ酸を欠くことによりSPの作用を発揮するのに必要なNK-1受容体との結合能力がないことと肥満細胞との反応性を有していることによる。C末端ペプチドとしてSP₆₋₁₁を用いたのは、NK-1受容体を刺激する最小のC末端ペプチドであることによる。

SPによる顆粒球浸潤を同じ程度の肥満細胞脱顆粒を惹起する濃度で比較した場合、SPはSP₁₋₉あるいはcompound 48/80に比し、より強く顆粒球浸潤を惹起した。SPがより強く顆粒球浸潤を惹起する機序として、SPそのものはC末

端ペプチドおよびN末端ペプチド両者の活性を有しているので、N末端ペプチドにより肥満細胞の脱顆粒が惹起されると同時にC末端ペプチドがその他の細胞に効果を発揮して顆粒球浸潤を増強している可能性が考えられる。その可能性の1つとして、SPがそのC末端ペプチドを介して直接血管内皮細胞に作用し、血管透過性亢進などを惹起することが考えられる¹⁰⁾。それによりSPの場合は血管透過性亢進により肥満細胞からの走化性メディエーターの作用増強や血管内皮細胞上の接着分子の発現増強などを介して、顆粒球浸潤が増強される可能性がある。事実SPは培養ヒト血管内皮細胞上のICAM-1の発現を増加させる。これに対しSP₁₋₉とcompound 48/80は血管内皮細胞に対する作用はなく血管透過性亢進作用を有さない。

本研究により、LTB₄がSPによるマウス皮膚好中球および好酸球浸潤の主要な肥満細胞由来走化性メディエーターであると考えられる。すなわち、LTB₄拮抗剤ONO-4057³⁾前投与によりSP皮下投与6時間後の好中球と好酸球浸潤は抑制され、その抑制の程度はDSCGのそれと同程度であった。さらにONO-4057はSP皮下投与24時間後の好中球浸潤をDSCGによるそれと同程度抑制した。しかしONO-4057はSP皮下投与24時間後の好酸球浸潤は有意には抑制しなかった。

LTB₄は好中球と好酸球に対する強力な走化性メディエーターである¹¹⁻¹³⁾。しかしごく最近までLTB₄特異的拮抗剤がなかったため、*in vivo*の実際の炎症反応におけるLTB₄の役割は解析できなかった。今回我々は新しく開発されたLTB₄拮抗剤ONO-4057³⁾を用い、肥満細胞由来のLTB₄がSPによるマウス皮膚顆粒球浸潤に関与していることを示した。本拮抗剤は〔³H〕LTB₄の各種動物好中球に対する結合を競合的に疎外し、その特異性もleukotriene C₄とD₄、種々prostaglandins、血小板活性化因子などとの交叉性がないことが示されている³⁾。

最後に本研究により、皮膚における神経ペプチ

ドによる炎症反応の成立機序の一端が解明された。この研究成果は皮膚炎症反応の抑制と修復の秩序ある促進に有用な知見と考えられ、コスメトロジーの分野に貢献すると考えられる。すなわち、化粧品を含め種々外来異物は皮膚感覚神経を直接的あるいはアレルギー反応を介して間接的に刺激して、神経ペプチドを遊離させる。遊離した神経ペプチドは、皮膚肥満細胞、顆粒球、血管内皮細胞など多くの細胞を活性化し炎症反応を惹起させると考えられる。まず第一に、コスメトロジーの原因的治療の観点からすると、化粧品の開発は感覚神経のサブスタンスPなどの神経ペプチドを遊離させないことが大切で、化粧品の安全性の指標として考慮されるべきであろう。次に、遊離した神経ペプチドによる炎症反応の特異的抑制にはSP拮抗剤をはじめとする神経ペプチドの特異的拮抗剤の皮膚局所投与で有効性が期待できる。さらにLTB₄拮抗剤やICAM-1拮抗剤が有効であることが示唆される。

以上から、本研究の成果は化粧品による直接的あるいはアレルギー反応を介した間接的な皮膚神経性炎症に対する効果的な治療法の理論的根拠を与えると考えられる。

REFERENCES

- 1) Lawman, M.J.P., Boyle, M.D.P., Gee, A.P. and Young, M.: A rapid technique for measuring leukocyte chemotaxis in vivo. *J. Immunol. Methods* 69:197-206, 1984.
- 2) Garland, L.G.: Effect of cromoglycate on anaphylactic histamine release from rat peritoneal mast cells. *Br.J.Pharmacol.* 49:128-130, 1973.
- 3) Kishikawa, K., Matsunaga, N., Maruyama, T., Seo, R., Toda, M., Miyamoto, T. and Kawasaki, A.: ONO-LB-457 : A novel and orally active leukotriene B₄ receptor antagonist. *Adv. Prostaglandin, Thromboxane and Leukotriene Res.* 21:407-410, 1990.
- 4) Iwamoto, I., Tomoe, S., Tomioka, H. and Yoshida, S.: Leukotriene B₄ mediates substance P-induced granulocyte infiltration in mouse skin. Comparison with antigen-induced granulocyte infiltration. *J. Immunol.* 151:2116-2123, 1993.
- 5) Nakagawa, N., Iwamoto, I., and Yoshida, S.: Effect of substance P on the expression of an adhesion molecule ICAM-1 in human vascular endothelial cells. *Regul. Peptide* 46:223-225, 1993.
- 6) Matsuda, H., Kawakita, K., Kiso, Y., Nakano, T. and Kitamura, Y.: Substance P induces granulocyte infiltration through degranulation of mast cells. *J. Immunol.* 142: 927-931, 1989.
- 7) Yano, H., Wershil, B.K., Arizono, N. and Galli, S.J.: Substance P-induced augmentation of cutaneous vascular permeability and granulocyte infiltration in mice is mast cell dependent. *J. Clin. Invest.* 84:1276-1286, 1989.
- 8) Fewtrell, C.M.S., Foreman, J.C., Jordan, C. C., Oehme, P., Renner, H. and Stewart, J.M.: The effects of substance P on histamine and 5-hydroxytryptamine release in the rat. *J. Physiol.* 330:393-411, 1982.
- 9) Lowman, M.A., Benyon, R.C. and Church, M.K.: Characterization of neuropeptide-induced histamine released from human dispersed skin mast cells. *Br.J.Pharmacol.* 95: 121-130, 1988.
- 10) Iwamoto, I. and Nadel, J.A.: Tachykinin receptor subtype that mediates the increase in vascular permeability in guinea pig skin. *Life Sci.* 44 : 1089-1095, 1989.
- 11) Palmblad, J., Malmsten, C.L., Uden, A., Radmark, O., Engstedt, L. and Samuelsson, B.: Leukotriene B₄ is a potent and stereo-

- specific stimulator of neutrophil chemotaxis and adherence. *Blood* 58 : 658-662, 1981.
- 12) Nagy, L., Lee, T.H., Goetzl, E.J., Pickett, W. C. and Kay, A.B.: Complement receptor enhancement and chemotaxis of human neutrophils and eosinophils by leukotrienes and other lipoxygenase products. *Clin. Exp. Immunol.* 47 : 541-547, 1982.
- 13) Soter, N.A., Lewis, R.A., Corey, E.J. and Austen, K.F.: Local effects of synthetic leukotrienes (LTC₄, LTD₄, LTE₄ and LTB₄) in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 80 : 115-119, 1983.