

季節性アレルギー結膜炎における涙液中 eosinophil cationic protein の測定

室本 圭子¹⁾, 庄司 純¹⁾, 稲田 紀子¹⁾, 澤 充¹⁾, 加藤 博司²⁾

¹⁾ 日本大学医学部眼科学教室, ²⁾ 大日本インキ化学工業株式会社

要 約

目的: スギ花粉による季節性アレルギー結膜炎患者の, 涙液中 eosinophil cationic protein (ECP) 濃度を測定し, 涙液中 ECP 測定の季節性アレルギー結膜炎における診断および病態検討の有用性を検討した。

対象と方法: 対象は, スギ花粉による季節性アレルギー結膜炎群と健常対照群であり, 測定期間は 2001~2003 年の 3 年間である。季節性アレルギー結膜炎群を, スギ花粉飛散前に測定した花粉飛散前群 27 例 27 眼, スギ花粉飛散中に測定した花粉飛散期群 44 例 44 眼の 2 群に分けた。健常対照群は, 健常成人 23 例 23 眼である。検体採取は, Schirmer 試験 I 法を用いて涙液を採取した。検体は, Schirmer 試験紙から緩衝液 (0.5 M NaCl + 0.5% Tween 20 添加 0.01 M リン酸緩衝液) で溶出し, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で ECP 値を測定した。

結果: ELISA 法の測定レンジは 3.6~180 $\mu\text{g/l}$ であった。涙液 ECP 値が測定下限値以上を示した症例の平均値は, 健常対照 $5.06 \pm 3.39 \mu\text{g/l}$ ($n=7$) (平均値 \pm 標準偏差), 花粉飛散前群 $9.32 \pm 6.68 \mu\text{g/l}$ ($n=11$), 花粉飛散期群 $55.90 \pm 117.74 \mu\text{g/l}$ ($n=29$) であり, 健常対

照と比較して花粉飛散期群で有意に高値を示したが ($p < 0.005$), 花粉飛散前群との間に有意差はなかった。健常対照群の 95 パーセントタイル値 (11.1 $\mu\text{g/l}$) を cut-off 値とし, cut-off 値以上を陽性とした。季節性アレルギー結膜炎群での涙液 ECP 値の陽性率は, 花粉飛散前群で 27 眼中 3 眼 (2.5%), 花粉飛散期群で 44 眼中 18 眼 (40.9%) で健常対照群と花粉飛散期群との間に有意差 ($p < 0.01$) があった。また, 花粉飛散期群を季節前治療開始群 (季節前に治療投与を開始した群) と未治療群とに分けて涙液 ECP 値を比較したところ, 季節前治療開始群において低値の症例が多かったが, 統計学的有意差はなかった。

結論: 季節性アレルギー結膜炎における涙液 ECP 値の測定は, 花粉飛散期における病態把握に有用と考えられるが, 診断法としては偽陰性が多く有用性に乏しいと考えられた。(日眼会誌 110: 13-18, 2006)

キーワード: 季節性アレルギー結膜炎, スギ花粉, 好酸球, ECP

Tear Eosinophil Cationic Protein Measurement in Patients with Seasonal Allergic Conjunctivitis

Keiko Muromoto¹⁾, Jun Shoji¹⁾, Noriko Inada¹⁾, Mitsuru Sawa¹⁾ and Hiroshi Kato²⁾

¹⁾ Department of Ophthalmology School of Medicine, Nihon University

²⁾ Dainippon INK & Chemicals Inc

Abstract

Purpose: In the patients with seasonal allergy conjunctivitis (SAC), we investigated the concentration of tear eosinophil cationic protein (ECP) levels, the diagnosis of SAC and the usefulness of studying the disease states.

Subjects and Methods: The subjects were patients suffering from conjunctivitis seasonal allergy caused by cedar pollen and a healthy control group, and the study period was three years from 2001 to 2003. We divided the allergy group into 27 eyes of 27

patients that we measured before the pollen season and 44 SAC eyes of 44 patients that we measured during the pollen season. The healthy control group was 23 eyes of 23 healthy adults. Tears were collected by the schirmer I method. The ECP value of specimens was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using samples which we eluted in buffer (0.5 M NaCl + 0.5% tris buffer saline with Tween 20) from Schirmer test paper.

Results: The measurement range of ELISA was

別刷請求先: 173-8610 東京都板橋区大谷口上町 30-1 日本大学医学部眼科学教室 室本 圭子
(平成 16 年 12 月 14 日受付, 平成 17 年 3 月 24 日改訂受理)

Reprint requests to: Keiko Muromoto, M. D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Nihon University, 30-1 Oyaguchikami-machi, Itabashi-ku, Tokyo 173-8610, Japan

(Received December 14, 2004 and accepted in revised form March 24, 2005)

3.6~180 $\mu\text{g/l}$. The mean ECP value above the lower limit of ELISA in tears was $5.06 \pm 3.39 \mu\text{g/l}$ ($n=7$) (mean \pm standard deviation) for the healthy control group, 9.32 ± 6.68 ($n=11$) for the preseason group, and 54.90 ± 117.74 ($n=29$) for the pollen season group. The difference between the healthy group and the seasonal group was highly significant ($p < 0.005$), but there was no significant difference between the healthy group and the preseason group. We set the cut-off point at the 95th percentile ($11.1 \mu\text{g/l}$) of the healthy group and considered any value above cut-off as positive. The ECP value was positive in 2.5% (3 eyes out of 27) in the preseason group and 40.9% (18 of 44) in the seasonal group, and there was a significant difference ($p < 0.01$) between the seasonal group and the healthy group. When the

seasonal group was divided into patients who had started treatment before the pollen season and those who began treatment during the season, we found a small ECP difference, but it was not statistically significant.

Conclusion : Measurement of the ECP value in seasonal pollen allergy sufferers may be useful for pathological ascertainment, but it does not provide adequate diagnosis because of the large number of false negative cases.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 110 : 13–18, 2006)

Key words : Cedar pollen, Eosinophil, Eosinophil cationic protein (ECP), Seasonal allergic conjunctivitis

I 緒 言

好酸球特異蛋白は、好酸球中の特異顆粒に含まれる蛋白質であり、eosinophil cationic protein (ECP), major basic protein (MBP), eosinophil peroxidase (EPO), eosinophil-derived neurotoxin (EDN) などの存在が知られている。春季カタルやアトピー角結膜炎症例では、MBP や ECP が角膜および結膜組織に作用して角結膜障害を重症化させると考えられている^{1)~4)}。以前に、我々は通年性アレルギー結膜炎、アトピー角結膜炎、および春季カタル症例におけるアレルギー炎症の指標として、濾紙採取法により採取した涙液中の ECP 値について検討し、アレルギー性結膜疾患の診断および病態把握に有用であることを報告⁵⁾した。

一方、アレルギー性結膜疾患に分類⁶⁾される季節性アレルギー結膜炎は、花粉抗原などの季節性抗原が原因で、花粉飛散時期の臨床症状は掻痒感、流涙、結膜充血、結膜浮腫などの臨床症状が生じるとされる。しかし、花粉症に代表される季節性アレルギー結膜炎では、合併するアレルギー鼻炎の影響を強く受け、結膜炎の病態を把握しにくい点が診療上の問題点になっている。また、季節性アレルギー結膜炎での臨床所見は結膜充血や結膜浮腫が主体であり、その成因はマスト細胞から放出されるケミカルメディエータによる即時相 (early phase) が中心とされ、遅発相 (late phase) における好酸球浸潤を伴うアレルギー炎症の発症およびその程度については、不明な点が多い。今回、我々は濾紙採取法により、涙液 ECP 値を測定し、涙液 ECP 測定の季節性アレルギー結膜炎における診断および病態把握における有用性について検討した。

II 対象および方法

1. 対象症例

本研究は、日本大学医学部倫理委員会の承認を得て行った。対象症例の内訳は表 1 に示した。対象は、日本大学医学部附属板橋病院眼科を受診したスギ花粉による季節性アレルギー結膜炎症例で、インフォームド・コンセントのうえ涙液採取が施行できた症例を季節性アレルギー結膜炎群とした。季節性アレルギー結膜炎の診断は過去に血清学的検査によりスギ特異的 IgE 抗体が検出され、臨床症状として掻痒感、流涙、結膜充血、結膜浮腫のいずれかがみられることとした。測定期間は 2001~2003 年までの 3 年間であり、各年の内訳は表 1 に示した。スギ花粉飛散開始日、花粉飛散総数は東京都福祉健康局ホームページ (<http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/>) 内のスギ・ヒノキ花粉飛散情報を参考にした。検体採取は 12 月から 1 月で、かつスギ花粉飛散前の時期に採取した検体は花粉飛散前群、1~3 月で、かつスギ花粉の飛散している時期に採取した検体を花粉飛散期群として分類した。今回の検討の対象はすべての症例で右眼とした。

健常対照は、アトピー素因を認めずコンタクトレンズ非着用者の健常成人ボランティアで、花粉飛散期に涙液を採取できた例を健常対照群とした。健常対照群は 23 例 46 眼であり、涙液 ECP の左右眼の比較および、健常対照涙液 ECP 値としては右眼の値を採用した。

2. ECP 測定方法

涙液の採取は、Shoji ら⁵⁾の方法に準じて行った。すなわち、Schirmer 試験 I 法に従い、ワットマン No. 41 濾紙で作製された Schirmer 試験紙 (Schirmer Tear Production Measuring Strips[®], 昭和薬品工業) を用いて 5 分間採取した。Schirmer 試験紙は、アシストチューブ[®] (Assist Trading 社) に入れ、 -20°C で冷凍保存した。

表 1 対象症例

	症例数	眼数	平均年齢 (±標準偏差) (歳)	性別 (男性:女性)
SAC(花粉飛散前)	27	27	51.3±16.4	4:23
2001 年	12	12	51.6±19.1	2:10
2003 年	15	15	51.1±14.7	2:13
SAC(花粉飛散期)	44	44	49.2±17.1	7:37
2001 年	16	16	51.2±17.9	3:13
2002 年	10	10	46.9±15.7	1:9
2003 年	18	18	48.6±17.8	3:15
健常対照	23	23	29.6±6.1	10:13

SAC: seasonal allergic conjunctivitis 平均値±標準偏差

表 2 花粉飛散群の内訳と季節前治療開始群における使用薬剤

季節前治療開始群	13 例 13 眼
インタール®(クロモグリク酸ナトリウム)点眼液	4 眼
インタール®点眼液 UD	1 眼
リボスチン®(塩酸レボカバステン)点眼液 0.025%	2 眼
ケタス®(イブジラスト)点眼液	1 眼
ニフラン®(プラノプロフェン)点眼	1 眼
インタール®点眼+リボスチン®点眼液 0.025%	3 眼
リボスチン®点眼液 0.025%+ゼペリン®(アシタザノラスト水和物)点眼液 0.1%	1 眼
未治療群	12 例 12 眼
不明	19 例 19 眼

表 3 涙液 ECP 値

	健常対照	花粉飛散前群	花粉飛散期群
測定下限値以上の検体数/ 総検体数 ($\geq 3.6 \mu\text{g/l}$)	7/23	11/27	29/44
測定平均値±標準偏差 ($\mu\text{g/l}$)	5.06±3.39	9.32±6.68	55.9±117.74

ECP: eosinophil cationic protein

測定時に冷凍保存した Schirmer 試験紙を解冻し、結膜嚢内に留置される Schirmer 試験紙の先端 5 mm の部分を切断し、0.5 M NaCl+0.1% Tween 20 添加リン酸緩衝液 200 μl 中で、室温、3 時間抽出を行い ECP 溶出液とした。

ECP 溶出液を用いて、AlaSTAT® microplate ECP キット (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, 米国) を用いた enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法で ECP 測定を行い涙液 ECP 値とした。ELISA 法の測定範囲は 3.6~180 $\mu\text{g/l}$ であり、3.6 $\mu\text{g/l}$ 未満を測定下限値以下とした。

3. 検討項目

涙液 ECP 値について、以下の 3 項目を検討した。

1) スギ花粉飛散前後での涙液 ECP 値の検討

花粉飛散期群、花粉飛散前群、健常対照群について、涙液 ECP 値について比較検討した。健常対照群では左右眼の ECP 値の比較を行い、かつ対照群の ECP 値としては右眼の値を採用した。各群の比較には、Mann-Whitney U-test を用い、危険率 5% 以下を有意とした。花粉飛散期群の 2001~2003 年のスギ・ヒノキ花粉飛散総数と測定値について検討した。また、同一症例で、花粉飛散期および花粉飛散前期の両方で涙液 ECP 値が測定できた 17 例 17 眼 (2001 年 7 眼、2003 年 10 眼) について個々の症例における涙液 ECP 値の変化を比較した。

2) 涙液 ECP 値の陽性率に関する検討

花粉飛散期群、花粉飛散前群、健常対照群について、涙液 ECP 値の陽性率を検討した。健常対照における涙

液 ECP 値の 95 パーセントイル値を求めて「参考基準範囲」(cut-off 値)を設定し、cut-off 値以上の測定値を陽性と定義して各群の陽性者数および陽性率を検討した。統計学的検討には Fisher の直接確率を用い、危険率 5% 以下を有意とした。

3) 季節前治療開始群の涙液 ECP 値に及ぼす影響

季節前治療開始群は、花粉飛散期群の中で、抗アレルギー薬の点眼 (表 2) (インタール点眼液®, インタール®点眼液 UD, ケタス®点眼液, リボスチン®点眼液 0.025%, ゼペリン®点眼液 0.1%, 以上の点眼液を単独または併用で治療) を花粉飛散 2 週間前から施行した症例とし、未治療群は、涙液 ECP 値測定まですべての治療薬が使われていない症例とした。花粉飛散期群 44 例中、季節前治療開始群は 13 例 13 眼、未治療群は 12 例 12 眼、不明は 19 例 19 眼であった。不明を除く季節前治療開始群および未治療群での涙液 ECP 値を比較検討した。各群の比較には、Mann-Whitney U-test を用い、危険率 5% 以下を有意とした。

III 結 果

1. スギ花粉飛散前後での涙液 ECP 値の検討

涙液 ECP 値の測定結果を表 3 に示す。測定下限値以上であった症例の右眼の涙液 ECP の平均値は、健常対照群 5.06±3.39 (平均値±標準偏差) $\mu\text{g/l}$ 、花粉飛散前群 9.32±6.68 $\mu\text{g/l}$ 、花粉飛散期群 55.9±117.74 $\mu\text{g/l}$ であった。また、涙液 ECP 値の測定値は、健常対照群に対して花粉飛散期群は有意に高値を示したが (p<

0.005), 花粉飛散前群と健常対照群との間に有意な差はなかった(図1). 2001~2003年のスギ・ヒノキ花粉飛散総数(東京都北区)は2001年は3,233個/cm²/シーズン(平年比の1.2), 2002年は5,547個/cm²/シーズン(昨年比の1.7), 2003年は2,886個/cm²/シーズン(平年比の0.5)であった. また, 花粉飛散期群の中で, 2001年測定値, 2002年測定値, 2003年測定値に分けて検討し

たところ, 各群間の測定値に差はなかった(図2). 花粉飛散前期と花粉飛散期の両時期において測定できた17例において, 両時期でのECP値の比較では花粉飛散期での涙液ECP値の高度上昇が7例, 軽度上昇が8例, 下降が2例あった(図3). 涙液ECP値の上昇した症例では, 結膜の乳頭増殖およびビロード状増殖, 角膜の上皮障害は認められなかった. なお, 健常対象の右眼は5.06±3.39, 左眼は4.95±2.92で, 左右眼において差がみられなかった.

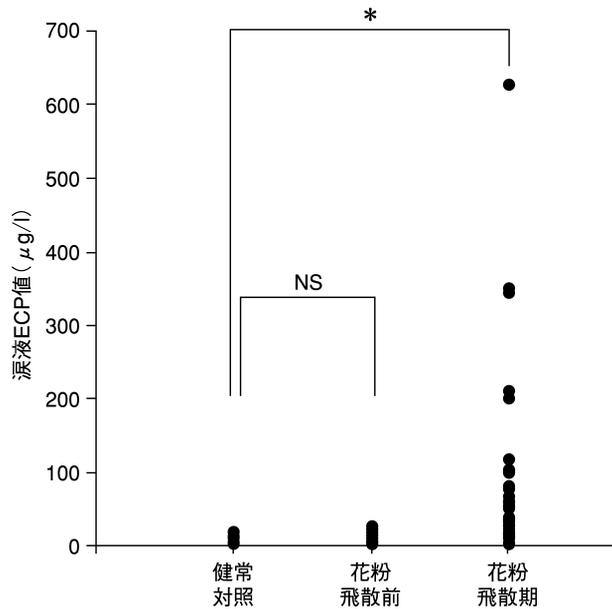


図1 花粉飛散前および花粉飛散期での涙液ECP値. 健常対照と比較して, 花粉飛散前群では有意差がないが, 花粉飛散期群では有意の上昇を示す.

* : Mann-Whitney U-test p<0.005

NS : Mann-Whitney U-test 有意差なし

ECP : eosinophil cationic protein

2. 涙液ECP値の陽性率に関する検討

健常対照群における涙液ECP値の95パーセンタイル値から「参考基準範囲」として11.1μg/lをcut-off値に設定した. 陽性者数および陽性率は健常対照群で23

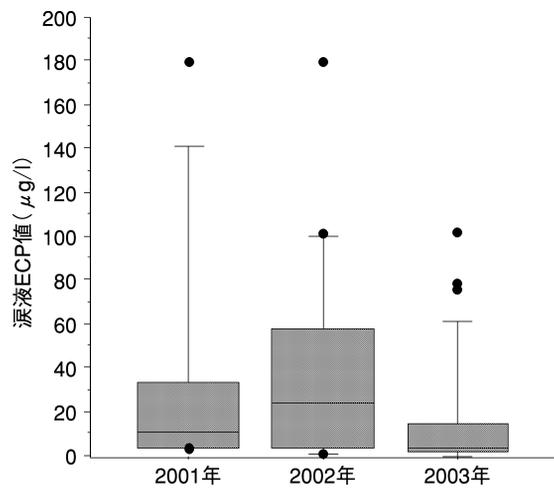


図2 各年における花粉飛散期の涙液ECP値.

各年別の涙液ECP値の測定値の箱ヒゲ図. 各年ともに測定値には大きな変動はない.

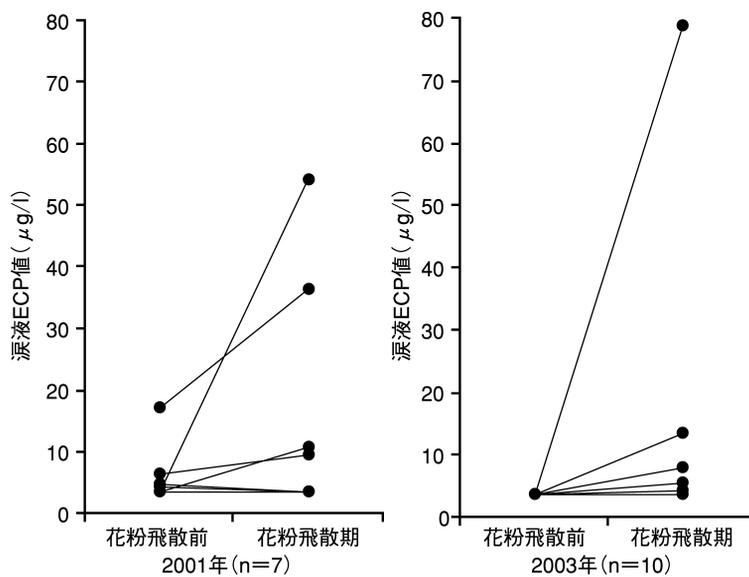


図3 涙液ECP値—花粉飛散前と花粉飛散期との比較.

個々の症例で, 花粉飛散前と花粉飛散期とを比較したところ, 花粉飛散期で上昇する症例が多数あるが, 一部に低下する症例もある.

表 4 涙液 ECP 値—参考基準範囲による検定

	健常対照 (n=23)	花粉飛散前群 (n=27)	花粉飛散期群 (n=44)
cut-off 値*以上	2	3	18
cut-off 値*未満	21	24	26

cut-off 値*：健常対照の 95 パーセンタイル値=11.1 μg/l
Fisher 直接確率 *：p<0.01 NS：有意差なし

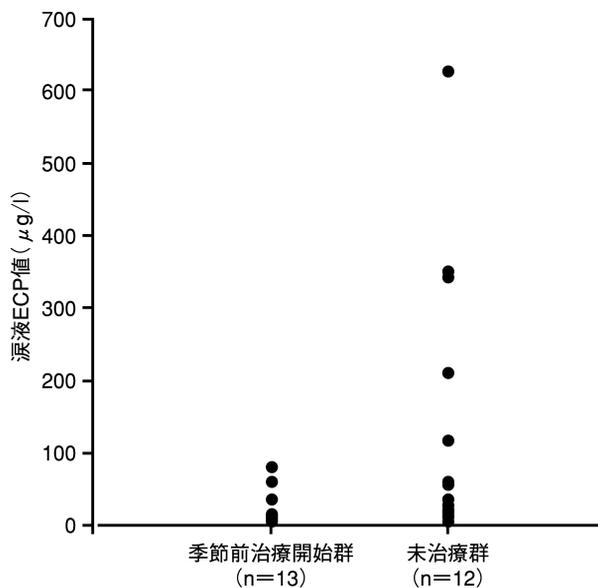


図 4 季節前治療開始群と未治療群との涙液 ECP 値の比較。

未治療群では、高値の症例から低値の症例まで幅広く分布しているのに対して、季節前治療開始群では全例で低値の症例である。しかし、両群の間に統計学的な有意差はない(Mann-Whitney U-test p=0.11)。

眼中 2 眼，花粉飛散前群で 27 眼中 3 眼(陽性率 2.5%)，花粉飛散期群で 44 眼中 18 眼(陽性率 40.9%)であり，健常対照群と花粉飛散期群との間に有意差(Fisher 直接確率 p<0.01)があった(表 4)。

3. 季節前治療開始群の涙液 ECP 値に及ぼす影響

季節前治療開始群および未治療群での涙液 ECP 値の測定結果を図 4 に示す。未治療群では涙液 ECP 値が高値の症例から低値の症例まで幅広く分布しているのに対して、季節前治療開始群では全例 100 μg/l 以下を示す低値の症例であった。しかし、両群の間に統計学的な有意差はなかった。

IV 考 按

今回、濾紙採取法により、スギ花粉による季節性アレルギー結膜炎症例の涙液中の ECP 値を ELISA 法により検討した。Montan ら⁷⁾は季節性アレルギー結膜炎症

例に対して、抗原点眼誘発試験を行い涙液中の ECP 値をラジオイムノアッセイ法により測定した結果、誘発後 6, 8, 24 時間で涙液 ECP 値が上昇したことから、ECP 上昇には遅発相が関与していることを報告した。ECP は好酸球に含まれる特異顆粒蛋白であることから、好酸球に特異的であり、組織への好酸球浸潤の指標となると考えられる。したがって、結膜塗抹標本において、好酸球が検出されればアレルギー結膜炎と診断され、正常結膜では好酸球は検出されないとされてきたことと同様に、理論的にはアレルギー反応の遅発相が生じると測定値が陽性となり、健常対照者では陰性であると考えられる。しかし、今回の測定では、測定値は低値ながら健常対照者の 23 眼中 7 眼が測定下限値以上になった。この理由として、本測定法の偽陽性という考え方と塗抹標本では検出させないものの、感度が高い本検査法などでは検出される程度の少数の好酸球が正常結膜でも存在する可能性があるとする考え方がある。こうしたことから、本測定法による判定には、健常対照の測定値を参考にして真の正常域を確立した上で陽性者を決定することが重要であり、健常対照群の ECP 測定値の 95 パーセンタイルを cut-off 値とすることで検討した。濾紙採取法においては、好酸球などの炎症細胞、結膜上皮を含んだ涙液として採取されている。したがって、純粋な涙液中濃度測定ではないと考えられる。しかし、炎症細胞、結膜上皮を含んだ場合に測定値が誤った診断につながらないと考える。涙液採取については毛細管より採取しやすい点で、濾紙採取法の方が有用であると考えられる。これについては、既報⁵⁾でも報告している。

また、季節性アレルギー結膜炎における涙液 ECP 値に関する既報として、Montan ら⁸⁾はラジオイムノアッセイ法により平均値 70 μg/l, Leonardi ら⁹⁾は平均 52±63 μg/l で春季カタル症例よりも低値であったと報告している。今回の症例はスギ花粉による季節性アレルギー結膜炎であり、花粉飛散期の平均値は、55.9±117.7 μg/l で、ラジオイムノアッセイ法による既報⁸⁾⁹⁾の測定値とほぼ同様の結果であった。また、既報⁸⁾⁹⁾や今回の結果から判断すると、花粉抗原による季節性アレルギー結膜炎では花粉飛散期に遅発相が生じる可能性があるも

の、春季カタルなどの重症アレルギー結膜炎と比較して遅発相の持続時間が短く、炎症の程度が軽い可能性が考えられる。したがって、涙液 ECP 値を測定する日時によっては、花粉飛散期であっても、軽症の季節性アレルギー結膜炎症例では涙液 ECP 値が上昇せず、約 60% の症例で陰性となったと考えられる。Montan ら⁸⁾もスギ花粉症でありながら涙液 ECP 値が低値を示す症例があることを指摘しており、季節性アレルギー結膜炎における遅発相の検討が必要であると考えられる。涙液 ECP 値は季節性アレルギー結膜炎を診断する際には陰性例が多いことから有用性は低いが、アレルギー結膜炎に関する病態把握のための検査法として使用できる可能性があると考えられた。

また、今回飛散量の異なる 3 年間で ECP 値を測定したところ差はなく、本検査は花粉飛散量により変動は小さいと考えられた。

季節前投与方法(初期療法)は、花粉による季節性アレルギー疾患に対して花粉飛散の約 2 週間以上前から抗アレルギー薬を投与して、花粉飛散期におけるアレルギー症状を軽減する治療法である。季節性アレルギー結膜炎に対する抗アレルギー点眼薬による季節前投与方法(初期療法)は、花粉飛散期におけるアレルギー結膜炎の臨床症状を軽減させることが報告¹⁰⁾¹¹⁾されている。今回、季節前治療開始群と未治療群とに分けて涙液 ECP 値を検討したところ、季節前治療開始群では低値を示す症例が多く、未治療群では高値から低値まで様々であったが、全体として両群では有意差はなかった。すなわち、本検査法は、治療効果判定を目的とする検査法として用いた場合、メディエータ遊離抑制を主たる薬効とする抗アレルギー薬において横断的手法による治療効果判定を行うには有用性が低いと考えられた。ただし、同一症例での経時的測定法は効果判定に有用である可能性があると考えられる。また、アレルギー性角結膜疾患に対する副腎皮質ステロイド薬に対する治療効果判定には有用であるとされている⁹⁾ことから、季節性アレルギー結膜炎の治療における副腎皮質ステロイド薬の適応基準と効果判定には有用である可能性があり、さらに症例を増やして検討する必要があると考えられる。

文 献

- 1) Trocme SD, Kephart GM, Allansmith MR, Bourne WM, Gleich GJ : Conjunctival deposition of eosinophil granule major basic protein in vernal keratoconjunctivitis and contact lens-associated giant papillary conjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 108 : 57, 1989.
- 2) Trocme SD, Kephart GM, Burne WM, Bourne WM, Buckley RJ, Gleich GJ : Eosinophil granule major basic protein deposition in corneal ulcer associated with vernal keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 115 : 640—643, 1993.
- 3) Messmer EM, May CA, Stefani FH, Welge-Luessen U, Kampik A : Toxic eosinophil granule protein deposition in corneal ulcerations and scars associated with atopic keratoconjunctivitis. *Am J Ophthalmol* 134 : 1816—821, 2002.
- 4) 庄司 純, 齋藤圭子, 高浦典子, 稲田紀子, 澤充 : アレルギー性結膜炎の組織学的検討第 2 報—結膜におけるアレルギー炎症の経時的変化—。 *眼紀* 46 : 1015—1020, 1995.
- 5) Shoji J, Kitazawa M, Inada N, Sawa M : Efficacy of tear eosinophil cationic protein level measurement using filter paper for diagnosing allergic conjunctival disorders. *Jpn J Ophthalmol* 47 : 64—68, 2003.
- 6) 日本眼科医会アレルギー眼疾患調査研究班 : アレルギー性結膜疾患の診断と治療ガイドライン。 *日本眼科医会アレルギー眼疾患調査研究班業績集* : 9—11, 1996.
- 7) Montan PG, Van Hage-Hamsten M, Zetterström : Sustained eosinophil cationic protein release into tears after a single high-dose conjunctival allergen challenge. *Clin Exp Allergy* 26 : 1125—1130, 1996.
- 8) Montan PG, Van Hage-Hamsten M : Eosinophil cationic protein in tears in allergic conjunctivitis. *Br J Ophthalmol* 80 : 556—560, 1996.
- 9) Leonardi A, Borghesan F, Faggian D, Depaoli M, Secchi AG, Plebani M : Tear and serum soluble leukocyte activation markers in conjunctival allergic diseases. *Am J Ophthalmol* 129 : 151—158, 2000.
- 10) 齋藤圭子 : アレルギー性結膜炎に対する予防的治療法。 *あたらしい眼科* 17 : 1199—1204, 2000.
- 11) 高村悦子 : 治療薬の最前線と問題点—抗アレルギー点眼薬, 初期療法—。 *アレルギー・免疫* 6 : 1638—1644, 1999.