

総 説

緑の香りのストレス緩和作用が皮膚バリア障害を防止する

鳥取大学医学部医学科 生理学講座 統合生理学分野

渡 邊 達 生

Stress-relieving effect of green odor prevents stress-induced skin-barrier disruption in rats

Tatsuo WATANABE

*Division of Integrative Physiology, Department of Physiology, Tottori University
Faculty of Medicine Nishi-cho 86, Yonago, Tottori, 683-8503, Japan*

ABSTRACT

This review focuses on the stress-relieving effect of so called green odor and its effect on the stress-induced skin-barrier disruption in rats. A quantitative analysis of Fos protein immunohistochemistry on the neuronal activations in stress-related forebrain regions showed that acute restraint stress for 90 min increased Fos-positive cells in the entire hypothalamic paraventricular nucleus (PVN), and in the central and medial amygdala. These stress-induced Fos responses were much weaker in rats that inhaled green odor during restraint, suggesting that in rats, green odor inhalation may act on the brain to suppress activity in the neuronal networks involved in activation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical (HPA) axis. On that basis, we next investigated whether inhalation of green odor prevents the skin-barrier disruption induced by chronic restraint stress in rats. Chronic restraint stress (8 h per day for 14 days) increased transepidermal water loss (TEWL), an index of skin-barrier disruption. This effect (and the chronic stress-induced increase in adrenal weight) was prevented in rats that inhaled green odor at the beginning of each day's restraint (2 h each day for 14 days). Electron-microscope studies revealed that rats in the green odor+stress group possessed sufficient inter-corneocyte lipids to create an effective skin barrier, although these had apparently been decreased in the vehicle+stress group. Daily administration of dexamethasone for 14 days increased TEWL. Collectively, these results suggest that chronic stress-induced disruption of the skin barrier in rats can be reduced or prevented by green odor (at least in part through an inhibitory effect on the stress-induced activation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis).

(Accepted on October 25, 2012)

Key words : Green odor, Stress, HPA axis, PVN, Amygdala, skin-barrier disruption, TEWL

はじめに

生体がストレスに曝露されると、血圧上昇や血漿副腎皮質刺激ホルモン (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 濃度の上昇など紋切り型の反応を起こすことが知られている^{1,2)}。さらに、この交感神経系や視床下部-下垂体-副腎系 (hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis, HPA axis) の活性化³⁾、が長い期間続くと全身の各臓器に影響が及ぶ。その作用の一つとして、皮膚への影響が挙げられる⁴⁾。実際、慢性ストレス負荷による皮膚のバリア機能の低下が報告されている⁵⁾。皮膚のバリア機能において重要なものの一つとして、皮膚表皮の最外層である角質層の角質細胞間脂質が挙げられるが^{6,7)}、慢性ストレスによる角質細胞間脂質の減少が報告されている⁸⁾。一方、テープストリッピング (動物の皮膚にテープを貼って、それを強制的に剥がす方法) などにより、急性に且つ人為的に破壊した皮膚のバリア機能の低下は、ストレスにより回復が遅延する^{9,11)}。

ストレスを受けた生体における、交感神経系や HPA axis の活動亢進には、視床下部室傍核が中心的役割を果たすと考えられている¹²⁾。これまで、ストレス下のラットの脳において、視床下部室傍核をはじめとするストレス関連領域での神経細胞の活動亢進が報告されている^{13,16)}。これらの研究では、神経活動の指標として Immediate Early Genes (IEGs) を用いている。IEGs は、けいれんや神経成長因子など種々の細胞外刺激によって、急速かつ一過性に神経細胞内に発現するという特徴から中枢神経系の神経細胞の活動の指標として研究に用いられてきたものである。

近年、鎮静系の香料の1つである緑の香りは、ストレスにより引き起こされるラットの血漿 ACTH 濃度上昇を抑制して、ストレスを緩和することが明らかにされた¹⁷⁾。また、人為的に作成した皮膚バリア機能低下の回復のストレスによる遅延は (上述)、鎮静系の香料により抑制されることが報告されている¹¹⁾。したがって私たちは、慢性ストレスによるストレス関連脳部位の活性化が香りによって抑制され、その結果、HPA axis の活性化が抑制されて、最終的に皮膚のバリア機能低下が改善されるのではないかと、という仮説を立てた。

この総説では私たちの研究に基づいて、1) ス

トレスによるストレス関連脳部位の活性化に及ぼす緑の香りの抑制効果、2) 慢性ストレスによる皮膚バリア機能低下に及ぼす緑の香りの抑制効果、について概説する。

ストレスによるストレス関連脳部位の活性化に及ぼす緑の香りの抑制効果¹⁸⁾

11週齢の雄の Wistar rat を使用した。緑の香りは同量の trans-2-hexenal と cis-3-hexenol を triethyl citrate で 0.03% (w/w) に希釈したものをを用いた (この濃度の緑の香りは、拘束ストレスによる血漿 ACTH 濃度増加を抑制すると報告されている¹⁷⁾。さらに、2つの匂い物質を混合するとそれぞれ単独よりも効果が強いことが分かっている¹⁹⁾。ラットに90分間の拘束ストレスを負荷した。緑の香りとその溶解液である vehicle は、ストレス負荷中ずっと提示した。ストレス負荷終了直後に脳を取り出し、室傍核と扁桃体の Fos タンパクの免疫組織化学染色を行った。実験で使用したラットは以下の3つの群に分けた。

vehicle+stress (V+S) 群…ストレスを負荷するとともに vehicle を提示; green odor+stress (G+S) 群…ストレスを負荷するとともに緑の香り (green odor) を提示; control (C) 群…一切何も処置しない群

室傍核の免疫染色の結果を図1に示す。Fos の発現は、C 群と比較して V+S 群で著しく上昇した。しかしながら、G+S 群では、V+S 群と比較して Fos の発現が明らかに減少した。一般的にストレス反応を仲介する経路として、交感神経系及び HPA axis が知られているが、これらの反応系の中核の一つに視床下部室傍核がある。図1の C 群の室傍核に示すように、室傍核を mpdd, mpdv, mpv, dp, pv, pm の6つの領域に分け、各領域の Fos 発現細胞を数値化して比較した¹⁸⁾。視床下部室傍核では、交感神経系の活動調節を行う dp 領域・mpv 領域において、V+S 群の Fos の発現と比較して、G+S 群での Fos の発現が減少していた¹⁸⁾。また、HPA axis の活動調節を行う、mpdv 領域・mpdd 領域においても同様の変化が観察された¹⁸⁾。したがって、緑の香りの吸入がストレス反応中枢における神経細胞の活動を抑制していると考えられる。HPA axis の反応の鍵となるのは、副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) である。CRH は、mpdv 領域・mpdd 領域に分布している

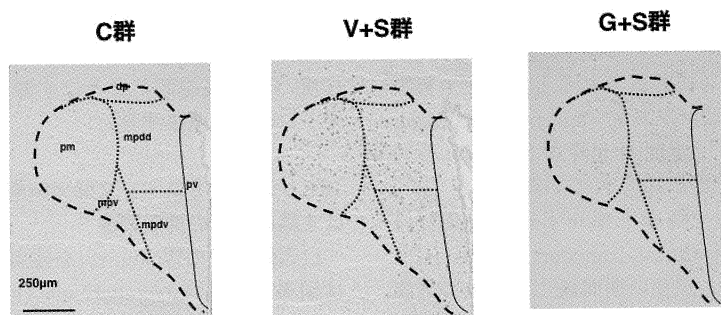


図1 視床下部室傍核でのFosタンパクの発現に及ぼす緑の香りの効果 (染色画像)

90分の拘束ストレスを負荷したラットの視床下部室傍核の免疫染色画像を示す。左にcontrol(C)群, 中央にvehicle+stress (V+S)群, 右にgreen odor+stress (G+S)群の結果を示す。室傍核の各領域をC群のパネルに示している。Ito et al.¹⁸⁾ から改変。

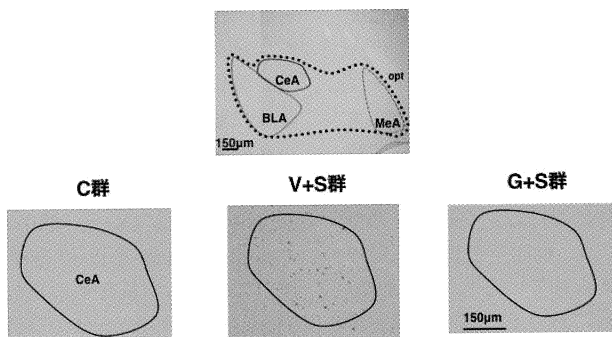


図2 扁桃体 (CeA領域)でのFosタンパクの発現に及ぼす緑の香りの効果 (染色画像)

90分の拘束ストレスを負荷したラットの扁桃体 (CeA領域)の免疫染色画像を示す。左下にcontrol (C)群, 中央下にvehicle+stress (V+S)群, 右下にgreen odor+stress (G+S)群の結果を示す。扁桃体の各領域を上のパネルに示している。Ito et al.¹⁸⁾ から改変。

CRHニューロンから分泌され, 下垂体前葉の細胞を刺激して副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)の分泌を促すことが分かっている^{12,20)}。今回の実験では, Fosのみの染色であるため, 実際にCRHニューロンの活動が亢進していることと, それを香りが抑制しているか否かは明らかでない。今後, 室傍核のCRHニューロンとFosの二重染色を行う必要がある。

扁桃体の一部であるCeA領域, MeA領域の観察を行った。V+S群では, CeA領域にFosの発現が顕著に観察された。一方, G+S群ではFosのシグナルが全く観察されなかった (図2)。V+S群のMeA領域において観察されたFosの発現は, G+S群では全く観察されなかった (図3)。ストレス関連領域の一つとして調べた扁桃体は, 情動行動の中枢として知られており, 特に, CeA領域のニュー

ロンは, 不安反応に関与する複数の脳部位に投射している²¹⁾。また, MeA領域は, 視床下部室傍核に投射しており, ストレスによるHPA axis活性化に関与している²²⁾。今回の結果から, 拘束ストレスにより扁桃体神経活動が亢進し, 室傍核ニューロンの活性化が起こるものと推察される。したがって, 緑の香りは, ストレスによる扁桃体神経活動亢進を抑制してHPA axis抑制を起こす可能性が想定される。

慢性ストレスによる皮膚バリア機能低下に及ぼす緑の香りの抑制効果²³⁾

慢性ストレスとしては, 1日8時間の拘束ストレスを14日間ラットに負荷した。ラットは以下の5つの群に分けた。

vehicle (V)群…ストレスは負荷しないがvehicle

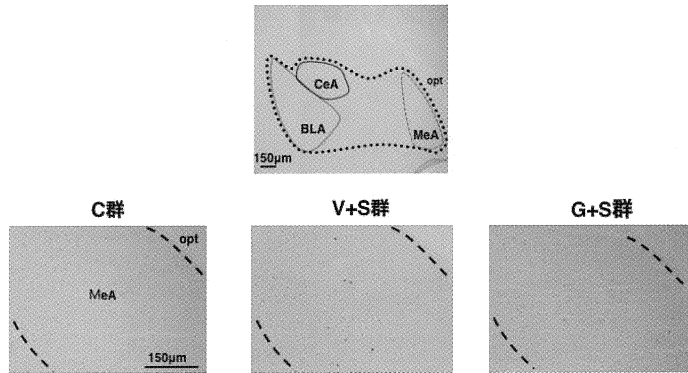


図3 扁桃体 (MeA領域) でのFosタンパクの発現に及ぼす緑の香りの効果 (染色画像)

90分の拘束ストレスを荷したラットの扁桃体 (MeA領域) の免疫染色画像を示す。左下にcontrol (C) 群, 中央下にvehicle+stress (V+S) 群, 右下にgreen odor+stress (G+S) 群の結果を示す。扁桃体の各領域を上のパネルに示している。 Ito et al.¹⁸⁾ から改変。

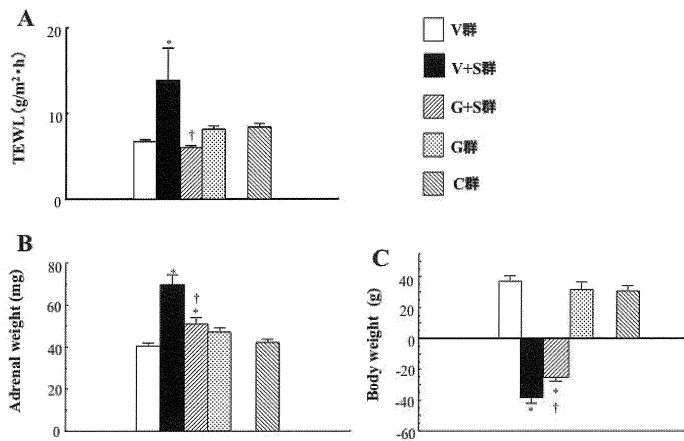


図4 慢性拘束ストレスによる経皮水分蒸散量 (TEWL) と副腎重量や体重の変化に及ぼす緑の香りの効果

1日8時間の拘束ストレスを14日間負荷した。慢性ストレス終了後のTEWL (A), 副腎重量 (B) および体重変化 (C) を示す。vehicle+stress (V+S) 群, green odor+stress (G+S) 群, green odor (G) 群, vehicle (V) 群とcontrol (C) 群で比較した。値はmean ± S.E.M.で表している。Fukada et al.²⁰⁾ から改変。

* p < 0.05 vs. V群, † p < 0.05 vs. V+S群

を2時間提示; vehicle+stress (V+S) 群…ストレスを荷するとともにvehicle をストレス荷の最初の2時間提示; green odor+stress (G+S) 群…ストレスを荷するとともにgreen odor をストレス荷の最初の2時間提示; Green odor (G) 群…ストレスは荷しないがgreen odor を2時間提示; control (C) 群…一切何も処置しない群

14日間の実験プロトコール終了後, 15日目に

ラットのtransepidermal water loss (TEWL) をサイクロン水分蒸散モニター (サイクロン水分蒸散モニター AS-CT1:アサヒバイオメッド) で測定した。TEWL測定後, 組織学的検討のためにラット背部皮膚の採取を行った。体重測定と副腎重量の測定を行った。

図4 AにTEWLの結果を示す。V+S群では, V群と比較してTEWL値が有意に上昇した (TEWL

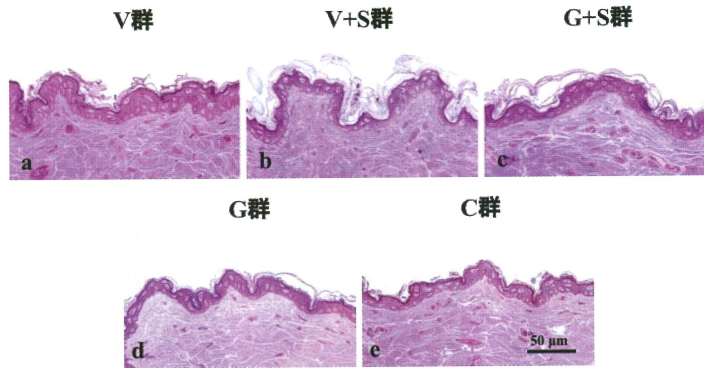


図5 慢性拘束ストレスによる皮膚の変化に対する緑の香りの効果（光学顕微鏡による画像）

1日8時間の拘束ストレスを14日間負荷した。慢性ストレス終了後の皮膚組織像を示す。vehicle+stress (V+S) 群, green odor+stress (G+S) 群, green odor (G) 群, vehicle (V) 群と control (C) 群の結果を示す。Fukada et al.²³⁾ から改変。

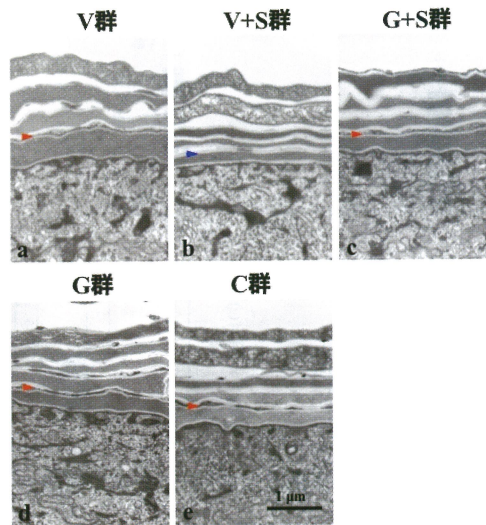


図6 慢性拘束ストレスによる皮膚の変化に対する緑の香りの効果（電子顕微鏡による画像）

1日8時間の拘束ストレスを14日間負荷した。慢性ストレス終了後の電子顕微鏡による皮膚組織（角質層）像を示す。vehicle+stress (V+S) 群, green odor+stress (G+S) 群, green odor (G) 群, vehicle (V) 群と control (C) 群の結果を示す。赤の矢じりは角質細胞間脂質を示す。青の矢じりは角質細胞間脂質の消失を示す。Fukada et al.²³⁾ から改変。

値の上昇は皮膚バリア機能の低下を意味する)。しかし、G+S群では、V+S群で観察されたTEWL値の上昇が有意に抑制された。なお、V群、G群、C群のTEWL値の間に有意な差は認められなかった。この結果から、緑の香りには、慢性ストレス負荷により誘発された皮膚バリア機能低下を抑制する効果があると考えられる。図4Bに、実験15

日目（ストレス期間終了後）の両側副腎重量を示す。V+S群ではV群と比較して副腎重量は有意に増加した。しかし、この増加は、G+S群では有意に抑制された。尚、V群、G群、C群の副腎重量に差は認められなかった。図4Cに14日間の慢性ストレスが、ラットの体重に及ぼす影響を示す。ストレス負荷を行ったV+S群、G+S群では、共

に体重の減少が観察された。しかし、G+S群は、V+S群と比較して体重の減少が有意に抑制された。なお、V群、G群、C群では実験期間中に体重が増加し、その値に有意な差は認められなかった。図4BとCの結果から、拘束を受けたラットは確かにストレス状態にあり（副腎重量の増加と体重の減少）、緑の香りはストレスを緩和したものと考えられる。

光学顕微鏡を用いた皮膚観察の結果を図5に示す。光学顕微鏡レベルでは、V+S群の表皮の皺形成が観察された。しかし、G+S群では皺は認められなかった。光学顕微鏡で観察する限り、V群、G群、C群、G+S群の4群間に、明確な違いはなかった。

透過型電子顕微鏡による所見を図6に示す。V+S群では、V群と比較して角質細胞間脂質が明らかに消失した。しかし、G+S群では、V+S群で観察された角質細胞間脂質の消失が防止されていた。V+S群では、V群と比較して角質第一層の菲薄化が観察されたが、G+S群では、それが認められなかった。V群の角質細胞内はケラチン線維が充満して電子密度が高いのに対して、V+S群の角質細胞は、電子密度の高い層が減少しているのが認められた。特に角質の上層には、ケラチン線維のまばらな電子密度の低い層が観察された。一方、G+S群では、電子密度の低い角質層は、ほとんど認められなかった。V群、G群、C群では、透過型電子顕微鏡による所見に大きな違いは認められなかった。角質細胞間脂質は皮膚バリア機能において重要な役割を果たしている⁶⁷⁾。したがって、緑の香りを吸入することで、角質細胞間脂質の消失が防止され、慢性ストレスによる皮膚バリア機能障害が防止できたものと推察される。

別の実験で、慢性的なDexametasone (DEX, 1 mg/kg) 投与が、皮膚バリア機能と体重に及ぼす影響について検討した。具体的には、9:00amにDEXあるいはsalineを腹腔内に投与した。これを14日間繰り返した。結果を図7に示す。DEX群では、saline群と比較してTEWL値が有意に上昇し、体重は有意に減少した。したがって、慢性ストレスにより分泌が増加するグルココルチコイドが皮膚バリア障害を引き起こすが、緑の香りは、グルココルチコイドの分泌を抑制して皮膚バリア障害を防止したものと考えられる。

結 語

今回の研究では、ストレスによる脳の神経細胞活動に及ぼす香りの効果について免疫化学染色法を用いて検討した¹⁸⁾。その結果、視床下部室傍核、扁桃体 (CeA領域、MeA領域) において、V+S群の顕著なFosの発現と比較して、G+S群でのFosの発現が明らかに減少している様子が観察された。この結果から、鎮静系の香料である緑の香りの吸入により、脳のストレス関連領域の神経細胞の活動が抑えられることが分かった。また、扁桃体は、情動行動の中核として知られており、不安や恐怖 (心理ストレス) を受けることによって神経活動が亢進する^{24,25)}。一方、HPA系の最上位に室傍核のCRHニューロンがある。したがって、緑の香りはストレスによる扁桃体の神経活動を抑制してHPA axisの活性化を抑制するものと推察される (図8)。

以上の結果に基づいて、グルココルチコイドの上昇が起こす異常に及ぼす緑の香りの効果について調べた。その異常の一つとして、慢性ストレスによる皮膚バリア障害を取り上げた²³⁾。その結果、慢性的なストレス負荷によりTEWL値は上昇するが、ストレス負荷時に緑の香りを吸入することによりTEWL値の上昇が抑えられることが明らかとなった。この結果から、緑の香りには、慢性ストレス負荷により誘発された皮膚バリア機能低下を抑制する効果があると考えられる。また、電子顕微鏡による解析の結果、V+S群では、皮膚バリア機能に重要とされる角質細胞間脂質が消失していたのに対し、G+S群では角質細胞間脂質の存在が明確に認められた。すなわち、皮膚のバリア機能低下には角質細胞間脂質の消失が関与しており、緑の香りの吸入により皮膚のバリア機能低下が抑制されるのは、角質細胞間脂質の消失が防止されたためであると推察される。14日間毎日DEX投与を行った結果、TEWL値は有意に上昇した。前述したように、慢性ストレス負荷ラット群でTEWL値が有意に上昇したことから、ストレス負荷中に分泌されるグルココルチコイドは、皮膚のバリア機能低下に関与する重要な因子の一つであると考えられる。緑の香りはHPA axisの活性化を抑制するので、緑の香りの吸入によりグルココルチコイドの分泌が抑えられた結果、皮膚バリア機能低下が抑制されたと推察される。

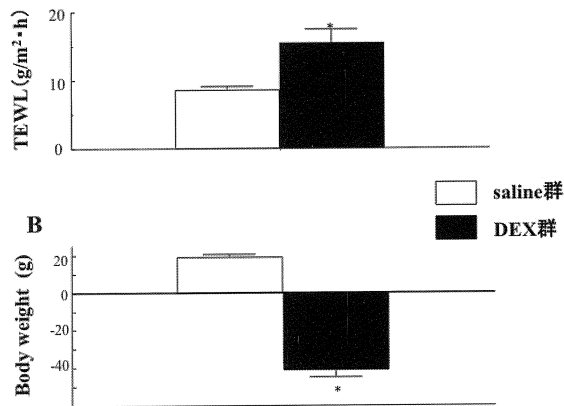


図7 TEWLと体重に対するdexamethasone (DEX) の慢性投与の効果

DEX (1mg/kg; DEX 群) あるいは生理食塩水 (saline群) を14日間毎日腹腔内投与した。投与期間終了後のTEWL (A) および体重変化 (B) を示す。DEX群とsaline群で比較した。値はmean ± S.E.M.で表している。Fukada et al.²⁰⁾ から改変。

* p < 0.05 vs. saline群

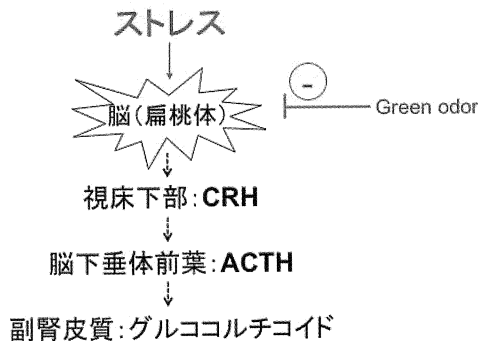


図8 ストレスによる脳・HPA axisの活性化に及ぼす緑の香りの抑制効果

生体がストレスを受けると、扁桃体ニューロンの活動が上昇する。その結果、視床下部室傍核のCRHニューロン活動が亢進する。下垂体門脈中に分泌されたCRHは下垂体前葉からのACTHの放出を促し、ACTHは副腎皮質からのグルココルチコイド分泌を刺激する。緑の香りは、ストレスによる扁桃体ニューロンの活動上昇を抑制して、HPA axisの活性化を抑える。破線の矢印は香りにより抑制される機構を示す。

私たちは、緑の香りの吸入が慢性ストレスによる角質細胞間脂質の消失を抑制してラット皮膚バリア機能低下を防止することを世界で初めて発見した。これらの所見は、ラットとマウスへのストレス負荷が、テープストリッピングによる皮膚バリア機能障害の回復を遅らせるが、その回復の遅延は、鎮静系の香料により防止されるという報告¹¹⁾ からも支持される。今回の実験結果から、緑

の香りは長期間のストレス状態下にある患者の皮膚バリア機能障害に起因する皮膚疾患の治療に利用することができると思われる。例えば、ストレスに関連して誘発されるアトピー性皮膚炎では皮膚バリア機能障害がその一因と考えられているので²⁶⁻²⁹⁾、緑の香りはこの疾患に効果があるかもしれない。緑の香りの治療上の意義について近い将来明らかにする必要がある。扁桃体とHPA

axis の抑制が緑の香りの効果に関与していることが推察されるが、香り刺激がどのように扁桃体とHPA axis の抑制をもたらすのか、そして特に緑の香りによりラットの脳内でどのような変化が引き起こされるかについては不明である。鼻粘膜あるいは肺から吸収された香りの匂い分子が、皮膚に直接作用してバリア障害を防止する可能性もある。これらの問題は今後明らかにするべき課題である。

近年、欧米だけでなく日本でも香り療法（アロマセラピー）が取り入れられ、ストレス起因性疾患に対する香りの有効性が期待されている。香りは極めて自然に近い刺激である。したがって本研究の結果は、慢性ストレス下にある現代人へのアロマセラピーが、ストレスに起因する各種疾患を予防する可能性への一里塚となり、将来のヒトを使った研究への基礎ともなると考えられる。

本稿を終えるに当たり、鳥取大学医学部保健学科基礎看護学の深田美香教授、鳥取大学医学部生理学講座統合生理学分野の三好美智夫助教、ならびに研究に参加された、多くの先生方・学生さんの御指導、御協力に深く感謝し、厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol* 2003; **463** (1-3):235-272.
- 2) Watanabe T, Fujioka T, Hashimoto M, Nakamura S. Stress and brain angiotensin II receptors. *Crit Rev Neurobiol* 1998; **12** (4): 305-317.
- 3) DiMicco JA, Sarkara S, Zaretskaiaa MV, Zaretskya DV. Stress-induced cardiac stimulation and fever: common hypothalamic origins and brainstem mechanisms. *Autonom Neurosci* 2006; **126-127**: 106-119.
- 4) Arck PC, Slominski A, Theoharides TC, Peters EM, Paus R. Neuroimmunology of stress: skin takes center stage. *J Invest Dermatol* 2006; **126** (8):1697-1704.
- 5) Aioi A, Okuda M, Matsui M, Tonogaito H, Hamada K. Effect of high population density environment on skin barrier function in mice. *J Dermatol Sci* 2001; **25** (3):189-197.
- 6) Elias PM. Stratum corneum defensive functions: an integrated view. *J Invest Dermatol* 2005; **125** (2): 183-200.
- 7) Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 2004; **17** Suppl 1: 43-48.
- 8) Choi EH, Brown BE, Crumrine D, Chang S, Man MQ, Elias PM, Feingold KR. Mechanisms by which psychologic stress alters cutaneous permeability barrier homeostasis and stratum corneum integrity. *J Invest Dermatol* 2005; **124**: 587-595.
- 9) Denda M, Tsuchiya T, Hosoi J, et al. Immobilization induced and crowded environment induced stress delay barrier recovery in murine skin. *Br J Dermatol* 1998; **138**: 780-785.
- 10) Denda M, Tsuchiya T, Elias PM, Feingold KR. Stress alters cutaneous permeability barrier homeostasis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; **278** : R367-R372.
- 11) Denda M, Tsuchiya T, Shoji K, et al. Odorant inhalation affects skin barrier homeostasis in mice and humans. *Br J Dermatol* 2000; **142**: 1007-1010.
- 12) Herman JP, Cullinan WE, Ziegler DR, Tasker JG. Role of the paraventricular nucleus microenvironment in stress regulation. *Eur J Neurosci* 2002; **1**:381-385.
- 13) Senba E, Matsunaga K, Tohyama M, Noguchi K. Stress-induced c-fos expression in the rat brain: activation mechanism of sympathetic pathway. *Brain Res Bull* 1993; **31**: 329-344.
- 14) Senba E, Ueyama T. Stress-induced expression of immediate earlygenes in the brain and peripheral organs of the rat. *Neurosci Res* 1997; **29**: 183-207.
- 15) Cullinan W E, Herman JP, Battaglia DF, Akil H, Watson SJ. Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* 1995; **64** (2):477-505
- 16) Melia KR, Ryabinin AE, Schroeder R, Bloom FE, Wilson MC. Induction and habituation

- of immediate early gene expression in rat brain by acute and repeated restraint stress. *J Neurosci* 1994; **14** (10): 5929-5938.
- 17) Nakashima T, Akamatsu M, Hatanaka A, Kiyohara T. Attenuation of stress induced elevations in plasma ACTH level and body temperature in rats by green odor. *Physiol Behav* 2004; **80** (4): 481-488.
- 18) Ito A, Miyoshi M, Ueki S, Fukada M, Komaki R, Watanabe T. "Green odor" inhalation by rats down-regulates stress-induced increases in Fos expression in stress-related forebrain regions. *Neurosci Res* 2009; **65** (2): 166-174.
- 19) Sano K, Tsuda Y, Sugano H, Aou S, Hatanaka A. Concentration effects of green odor on event-related potential (P300) and pleasantness. *Chem Senses* 2002; **27** (3): 225-230.
- 20) Viau V, Sawchenko PE. Hypophysiotropic neurons of the paraventricular nucleus respond in spatially, temporally, and phenotypically differentiated manners to acute vs. repeated restraint stress: rapid publication. *J Comp Neurol* 2002; **445**: 293-307.
- 21) Davis M. The role of the amygdala in fear-potentiated startle: implications for animal models of anxiety. *Trends Pharmacol Sci* 1992; **13** (1): 35-41.
- 22) Herman JP, Tasker JG, Ziegler DR, Cullinan WE. Local circuit regulation of paraventricular nucleus stress integration: glutamate-GABA connections. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; **71** (3): 457-468
- 23) Fukada M, Kaidoh T, Ito A, Yano T, Hayashibara C, Watanabe T. "Green odor" inhalation reduces the skin-barrier disruption induced by chronic restraint stress in rats: physiological and histological examinations. *Chem Senses* 2007; **32** (6): 633-639.
- 24) Möller C, Bing O, Heilig M. c-fos expression in the amygdala: in vivo antisense modulation and role in anxiety. *Cell Mol Neurobiol* 1994; **14** (5): 415-423.
- 25) Beck CH, Fibiger HC. Conditioned fear-induced changes in behavior and in the expression of the immediate early gene c-fos: with and without diazepam pretreatment. *J Neurosci* 1995; **15** (1 Pt 2): 709-720.
- 26) Taieb A. Hypothesis: from epidermal barrier dysfunction to atopic disorders. *Contact Dermatitis* 1999; **41** (4): 177-180.
- 27) Segre JA. Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. *J Clin Invest* 2006; **116** (5): 1150-1158.
- 28) Strid J, Strobel S. Skin barrier dysfunction and systemic sensitization to allergens through the skin. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; **4** (5): 531-541.
- 29) Wright RJ, Cohen RT, Cohen S. The impact of stress on the development and expression of atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; **5** (1): 23-29.