

能動感作モルモットの Platelet-Activating Factor 誘発 二相性気道反応に及ぼす Thromboxane A₂ 受容体拮抗薬, BAY u3405の効果

獨協医科大学アレルギー内科

有馬雅史 湯川龍雄 福田 健 牧野荘平

以前我々は、能動感作モルモットにおいて PAF 吸入 3～9 時間後に LAR 類似の呼吸抵抗 (Rrs) の増加を認め、LAR の出現には、能動感作という priming 効果及び PAF が関与している可能性を示唆した。一方 thromboxane A₂ (TXA₂) は、PAF によって誘導されることが報告されており、今回、我々は、同モデルにおける TXA₂ の関与について特異的 TXA₂ 受容体拮抗薬である BAY u3405 を用いて検討を行った。卵白アルブミンで感作したモルモットに BAY u3405 投与の 1 時間後に PAF 吸入を行い Rrs を経時的に測定した。また、PAF 吸入 9 時間後の気管組織内における炎症細胞浸潤についても観察を行った。PAF 吸入 4～9 時間後において、Rrs の再増加が対照群では全例に認められたが、BAY u3405 投与群では有意に Rrs の再増加が抑制された。気管組織の好酸球数、リンパ球数は対照群に比べ BAY u3405 投与群では有意な減少を示した。以上より、PAF による LAR の出現には TXA₂ の気道に対する直接作用及び血管透過性亢進による好酸球、リンパ球の組織内浸潤が関与している可能性が示唆された。

Key words: BAY u3405 — inflammatory cells — late asthmatic response — platelet-activating factor — thromboxane A₂

緒 言

近年、喘息の慢性化に好酸球を中心とする炎症細胞の浸潤を伴う気道粘膜傷害を特徴とした気道の炎症変化が注目されており、喘息の病態に活性化好酸球が重要な役割を果たしていることが示唆されている¹⁾²⁾。脂質メディエーターの一つである platelet-activating factor (PAF) は、強力な好酸球に対する遊走活性を示すことが知られており喘息における気道炎症に関与することが示唆されている³⁾⁴⁾。また、PAF は、in vitro で T リンパ球に対して、その機能を促進、抑制いずれの作用をも示すことが知られており^{5)~7)}、喘息の病態に免疫学的に関与している可能性が考えられる。以前、我々は能動感作モルモットの抗原暴露後の即時

型喘息反応 (IAR) に引き続き生ずる遅発型喘息反応 (LAR) 及び気道内好酸球浸潤が PAF 受容体拮抗薬によって抑制されることを報告した⁸⁾。また、能動感作モルモットでは、吸入 PAF に対する気道反応性が亢進し、PAF 吸入後に抗原暴露時と同様の二相性の気道反応が、気道内好酸球浸潤による気道炎症反応の増強と共に再現され⁹⁾、更にこれらの反応が、helper T cell suppressant である cyclosporin A によって抑制されることを認めた¹⁰⁾。これらの結果は抗原暴露後の LAR の出現には、PAF 及び T cell の作用による好酸球浸潤増強による気道炎症性傷害が関与する可能性を示唆している。

一方、thromboxane (TX) A₂ は、強力な気道収縮作用¹¹⁾と共に PAF と同様に気道過敏性を亢進させること¹²⁾が知られている。また、TXA₂ は PAF の二次的メディエーターとしての生理活性を示すことが示唆されている^{13)~15)}。そこで今回は、さきに述べた能動感作モルモットの PAF 吸入後の二相性気道反応及び気道炎症に対する TXA₂ の関与を検討するために選択的 TXA₂ 受容体拮抗薬である BAY u3405^{16)~20)} の同モルモット実験モデルに対する効果について検討した。

Received: February 13, 1995

Accepted: June 5, 1995

Abbreviations: IAR immediate asthmatic response; LAR late asthmatic response; LT leukotriene; OA ovalbumin; PAF platelet-activating factor; Rrs respiratory resistance; TXA₂ thromboxane A₂

材料と方法

1. 感作モルモットの作成

体重約300gのHartley系雄性モルモット(オリエンタルバイオサービス, 茨城県つくば市)を既に我々が報告した方法²¹⁾に従って, 卵白アルブミン(OA: Sigma, Grade V)で吸入感作した。すなわち, 我々の作製したプラスチック製抗原吸入装置(直径55cm, 高さ8cmの円筒形, モルモットの鼻口が中心に向かって放射状になるように固定が可能で, その中心に向かって抗原希釈nebulizer液の注入が行え, aspiratorでoutflowを同一に設定してあり同時に10匹, ほぼ均一の抗原吸入暴露が可能である)内にモルモットを入れ, ultrasonic nebulizer(オムロン社製)にて1日1回10mg/mlのOAを10分間, 10日間連続反復吸入暴露を繰り返し, 吸入開始後, 9~10日目にすべてのモルモットに喘息発作症状を認め, また, 呼吸抵抗がbaselineの2倍以上に増加したことを感作成立とした。次に抗原暴露のインターバルを1週間とし, 10mg/mlのOAを5分間暴露するブースター吸入を2回行った。その1週間後に, モルモットを無作為に4群に分け, 2群に対して0.5%メチルセルロースを用いて懸濁したBAY u3405(Bayer AGより提供を受けた)1mg/kg及び10mg/kgをそれぞれ経口投与した。また, 無処置群には, 0.5%メチルセルロースのみを経口投与し, これら3群をPAF投与群として用い, 残りの1群はPAF吸入前の組織学的検討に用いた。各群の感作回数は, 無処置群(n=6)が 9.60 ± 0.12 回, BAY u3405 1mg/kg投与群(n=6)が 9.12 ± 0.57 , BAY u3405 10mg/kg投与群(n=6)が 9.43 ± 0.33 回, 組織学的検討群は, 9.33 ± 0.25 回であった。これら各群間の感作回数には, 統計学的な有意差は, 認めなかった。

2. 呼吸抵抗の測定

呼吸抵抗(Rrs)の測定は, Terashiら²²⁾のoscillation法を用いて行った。すなわち, モルモットの頭部を外に突出させて固定でき, 頸部以下を密封させたanimal chamber(プラスチック製, 円筒部位の内径10cm, 長さ18cm, 壁の厚さ0.5cm, モルモット頸部固定部位は, ゴム製ドーナツ状のballoonで作製され密封可能)内でモルモットの後部より18Hzのsine wave(Leader Electronics Corp. Model LFG-1300 function oscillatorにTRIO integrated power amplifier, Model KA-900を通してCoral Corp. Model 12L-70, woofer speakerに接続し, sine waveを発生)の圧力波を加え

た。

一方, モルモットの呼吸流量を円錐形プラスチックマスク(円錐の先端に8mm径の穴をあけ200mesh鋼製スクリーンを設置)のスクリーンを通して, differential transducer(Validyne Engineering Corp. Model MP45-18)によって取り出し, 増幅器(シズメメディカル社製)を通してoscilloscope(三栄測器製2G46)に描き出し, polygraph(三栄測器製Surgical Monitor 125)に記録し, chamber内圧と呼吸流量の比より測定した。

3. PAF吸入後のRrs

0.5%メチルセルロースのみ, または, BAY u3405を投与し1時間後のモルモットに対して, 既に我々が報告した方法⁹⁾に準じてPAFを吸入させた。すなわち, 生理食塩水にて調整した10%エタノールをDevilbiss 646 nebulizerで6l/minで1分間吸入させ, 直後のRrsをbaseline値とし, 次に100%エタノールにて8mg/mlに溶解したC16合成PAF(Beecham社製)に生理的食塩水を加え800 μ g/mlとし1分間吸入させRrsの変化を9時間まで経時的に測定した。

4. 気管の組織学的検討

PAF吸入9時間後に直ちにペントバルビタール1mg/kg腹腔内投与によってモルモットを麻酔死させ, その気管肺を摘出し, 10%ホルマリン固定後, パラフィン包埋し, 2 μ m薄切した後, Wright-Giemsa染色を行い検鏡した。既報⁹⁾のごとく細胞浸潤の検討には, 気管で良好な再現性が得られることから今回は, 気管分岐部より約5mm口側気管組織について検討した。double-blindで測定された細胞数は, 画像描記装置(オリンパス)にて軟骨を除く気管壁のoutlineをトレースし, その面積をコンピューター(NEC 2次元デジタル化プログラム)を用いて測定し, 平面積1mm²当たりの細胞数として表した。観察領域は, 気管壁全周について検討した。

5. 統計処理

実験データは, 全てmean $\pm$ S.E.表現した。有意差の検定には, Dunnettの多重比較検定又はstudent's t-testを用い, p value<0.05を有意とした。

結 果

1. PAF吸入後のRrsの変化

PAF吸入後のRrsの推移をbaseline値に対する

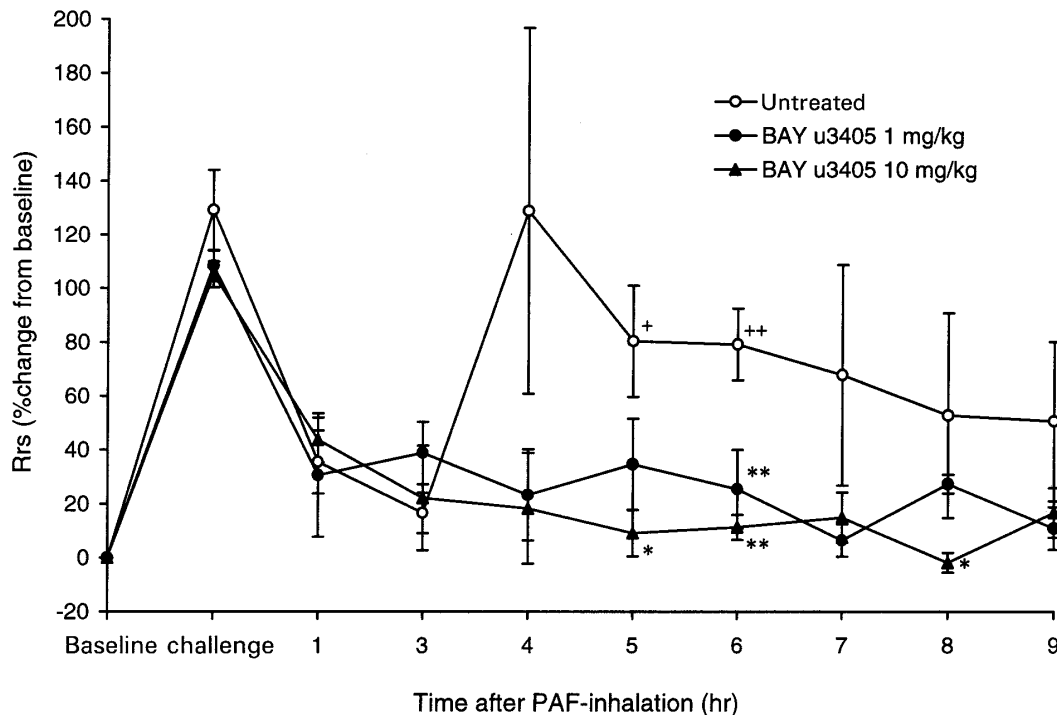


Fig. 1. Effect of BAY u3405 on the PAF-induced bronchoconstriction in sensitized guinea pigs. BAY u3405 1mg/kg or 10mg/kg was administered orally 1 hour before PAF inhalation. Values are mean $\pm$ S.E. of percent changes in respiratory resistance (Rrs) from baseline after PAF inhalation. ($n=6$, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ vs non-treated group, +: $p < 0.05$, ++: $p < 0.01$ vs baseline)

パーセント増加率として Fig. 1 に示す。各群の baseline 値は無処置群, BAY u3405 1mg/kg 投与群及び BAY u3405 10mg/kg 投与群でそれぞれ, 0.239 ± 0.008 , 0.244 ± 0.006 及び $0.250 \pm 0.009 \text{ cmH}_2\text{O/ml/sec}$ であり各群間に有意差は認められなかった。PAF 吸入直後の即時型気道反応は, 無処置群で baseline に対して $129.1 \pm 14.9\%$ の増加であったのに対し BAY u3405 1mg/kg 投与群, 10mg/kg 投与群では, それぞれ $108.3 \pm 5.7\%$, $105.1 \pm 4.8\%$ の増加であり, BAY u3405 により即時性気道反応の抑制傾向を示したが, 各群間に有意差は認められなかった。PAF 吸入 4~9 時間後の遅発相では, 無処置群で気道反応の上昇を示し, 5, 6 時間後でそれぞれ baseline に対して $80.3 \pm 20.6\%$ ($p < 0.05$), $79.1 \pm 13.2\%$ ($p < 0.01$) の Rrs の有意な再増加を認めた。これに対し, BAY u3405 投与群では, baseline に対して Rrs の有意な増加は認められなかった。すなわち, BAY u3405 1mg/kg 投与により 6 時間後 $25.2 \pm 14.5\%$ ($p < 0.01$), 10mg/kg 投与により 5 時間後 $9.1 \pm 8.6\%$ ($p < 0.05$), 6 時間後 $11.3 \pm 4.6\%$ ($p < 0.01$) の増加に留まり無処置群に比し明らかに遅発性気道反応が抑制された。

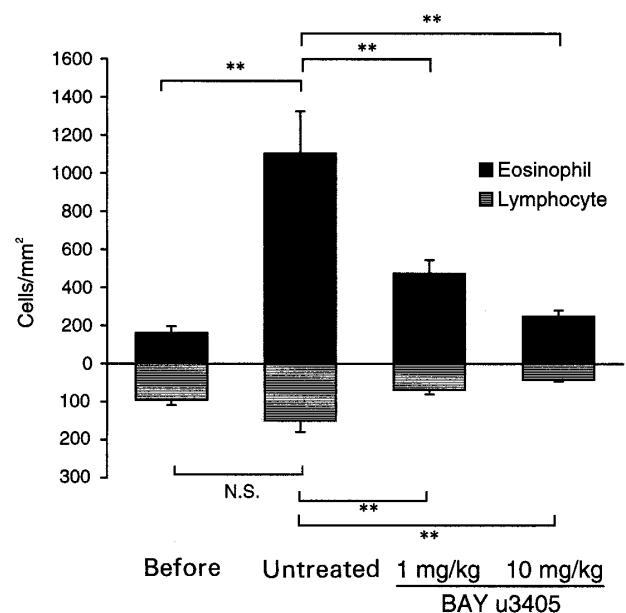


Fig. 2. Effect of BAY u3405 on the PAF-induced eosinophils and lymphocytes accumulation in tracheal walls. BAY u3405 1mg/kg or 10mg/kg was administered orally 1 hour before PAF inhalation. Each column is the mean $\pm$ S.E. of number of cells in tracheal walls 9 hours after PAF inhalation. ($n=6$, **: $p < 0.01$ vs control, N.S.: not significant)

2. 気管の組織学的検討

Fig. 2 に PAF 吸入 9 時間後の気管組織内の好酸球数及びリンパ球数を示す。PAF 未吸入群の気管組織内の好酸球数が、 $160.3 \pm 34.8/\text{mm}^2$ であったのに対し、PAF 吸入 9 時間後の無処置群では $1103.3 \pm 221.9/\text{mm}^2$ ($p < 0.01$) と有意に増加した。BAY u3405, 1mg/kg, 10mg/kg 投与群では、それぞれ $472.4 \pm 71.2/\text{mm}^2$ ($p < 0.01$), $247.9 \pm 31.4/\text{mm}^2$ ($p < 0.01$) と無処置群に対して有意な減少を示した。リンパ球数は、PAF 未吸入群では、 $95.9 \pm 13.3/\text{mm}^2$ であったのに対し、無処置群では $150.4 \pm 29.2/\text{mm}^2$ と増加傾向を示した。BAY u3405 1mg/kg, 10mg/kg 投与群では、それぞれ $69.2 \pm 11.5/\text{mm}^2$ ($p < 0.01$), $42.2 \pm 4.7/\text{mm}^2$ ($p < 0.01$) と無処置群に比べて有意に減少を示した。

考 察

選択的 TXA2 受容体拮抗薬 BAY u3405 の前投与によって、OA 反復吸入暴露による能動感作モルモットへの PAF 吸入後の二相性の気道反応の内、即時性気道反応に対しては明らかな抑制を認めなかったが、遅発相における気道反応及び気管内の好酸球及びリンパ球の浸潤に対しては有意な抑制が示された。

気管支喘息の慢性化の病態には、遷延性に浸潤した活性化好酸球による気道粘膜の炎症性組織障害が重要であると考えられている¹⁾²⁾。PAF は、好酸球に対して強力な遊走活性化能を示す脂質メディエーターとして知られており喘息の病態に関与することが示唆されている。更に、好酸球の活性化の増強に helper T cell から遊離されるサイトカインの作用が報告されている²³⁾²⁴⁾。喘息患者の好酸球は、PAF に対する遊走が亢進し、そのメカニズムの一部に GM-CSF, interleukin-5 の priming 効果が関与する²⁵⁾²⁶⁾ことが示唆されている。一方、既に我々は、能動感作モルモットの PAF の大量吸入後に抗原暴露時と類似の二相性気道反応及び気道内好酸球浸潤の増強を認めており、同動物モデルは PAF の喘息における作用の機序を解明するためのモデルと考えている。今回このモデルを用いて、LAR 発現における PAF の作用への TXA2 の関与を検討した。

PAF は、吸入あるいは、静脈内投与によって即時性の気道収縮を惹起することから抗原暴露後に特異的 IgE 刺激によって肥満細胞、好塩基球、マクロファージ

より放出された PAF が IAR の出現に関与する可能性がある。PAF の気道収縮のメカニズムは明らかではないが、おそらく肺組織に存在する種々の細胞より産生される二次的メディエーターを介して誘導されると考えられており、ヒト²⁷⁾²⁸⁾、モルモット²⁹⁾³⁰⁾では、histamine, leukotriene, TXA2 が関与することが示唆されている。Perarolani らは、能動感作モルモットより摘出された肺では、非感作モルモットに比し PAF に対する気道反応及び leukotriene, histamine, TXA2 の遊離が増強することを報告しており³¹⁾、我々の実験で認められた PAF 吸入後の即時性気道反応にこれらのメディエーターが関与している可能性が考えられる。しかし、PAF による即時性気道反応は、BAY u3405 によって減弱傾向を示したものの明らかな抑制作用は認められなかったことから、TXA2 以外の他のメディエーターの関与が示唆された。ただし以前我々は、能動感作モルモットの抗原暴露後の二相性喘息反応に対して、PAF 受容体拮抗薬である WEB2986 の効果について検討したところ、IAR の抑制は認められなかったことから少なくともモルモットにおける IAR の出現には、PAF の関与は重要でないことを示している⁸⁾ことから、今回認められた PAF 吸入後の即時性気道反応は、喘息の急性期反応のモデルとしては不適当かもしれない。一方、抗原誘発による LAR 及び気道内好酸球浸潤は、PAF 受容体拮抗薬による抑制が認められており、LAR の誘導には PAF が重要であることが示唆されている⁸⁾³²⁾³³⁾。また、最近では、TXA2 の関与も示唆されている。Iwamoto ら³⁴⁾はヒトの LAR が OKY-046 の前投与によって抑制されたことを報告しており、井上ら³⁵⁾はモルモットの抗原暴露後の LAR 及び気道内好酸球、リンパ球浸潤を BAY u3405 が抑制したことを認めている。今回、PAF 吸入後の誘導された遅発性気道反応及び好酸球、リンパ球浸潤が同薬剤で抑制されたことは、LAR の発現の一部には、抗原暴露後に産生された PAF によるリンパ球及び好酸球浸潤によって生ずる気道炎症性傷害が関与し、これら一連の反応の中で PAF は TXA2 の作用を介する可能性を示唆する。ただし、PAF 刺激によってマクロファージ、単球より interleukin-1, TNF などの炎症性サイトカイン³⁶⁾³⁷⁾、血小板細胞から RANTES などケモカイン³⁸⁾も産生される可能性があり、これらの関与は、否定できない。しかし、今回、BAY u3405 の強い細胞浸潤の抑制を認めたことは、TXA2 による血管透過性亢進³⁹⁾の重要性を示唆している。PAF 誘発性の遅発性気道反

応の発現には、おそらく、TXA₂の透過性亢進作用による細胞浸潤の初期の段階、すなわち、血管内皮における transmigration への関与が重要と考えられる。

その詳細なメカニズムの解明にはさらに実験を要するが、今回の実験結果から LAR の発現には TXA₂の作用を介する PAF の関与が推測された。

文 献

- 1) Kay, A.B.: Eosinophils as effector cells in immunity and hypersensitivity disorders. *Clin. Exp. Immunol.* **62**, 1-12, 1985.
- 2) Gleich, G.J.: The eosinophils and bronchial asthma; current understanding. *J. Allergy Clin. Immunol.* **85**, 422-436, 1990.
- 3) Townley, R.G., Hopp, R.J., Agrawal, D.K. and Bewtra, A.K.: Platelet-activating factor and airway reactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* **83**, 997-1010, 1989.
- 4) Barnes, P.J., Chung, K.F. and Page, C.P.: Platelet-activating factor as a mediator of allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **81**, 919-934, 1988.
- 5) Vivier, E., Deryckx, S., Wang, J.L., Valentin, H., Peronne, C., et al.: Immunoregulatory functions of T cell activation via CD2. *Int. Immunol.* **2**, 545-553, 1990.
- 6) Dulioust, A., Deprez, V., Pitton, C., Salem, P., Hermar, A., et al.: Immunoregulatory functions of paf-acether: III. Down-regulation of CD4+T cells high affinity IL-2 receptor expression. *J. Immunol.* **144**, 123-129, 1990.
- 7) Lacasse, C. and Rola-Pleszczynski, M.: Immune regulation by platelet activating factor: II. Mediation of suppression by cytokine-stimulated endothelial cells *in vitro*. *J. Leukoc. Biol.* **49**, 245-252, 1991.
- 8) 有馬雅史, 湯川龍雄, 寺師義典, 相良博典, 牧野莊平: モルモット実験喘息モデルにおける遅発型反応と気道過敏性亢進に及ぼす WEB2086 の影響. *アレルギー* **40**, 141-146, 1991.
- 9) 有馬雅史, 湯川龍雄, 寺師義典, 相良博典, 牧野莊平: 能動感作モルモットにおける血小板活性化因子(PAF)吸入による遅発型気道反応の誘導. *アレルギー* **41**, 607-614, 1992.
- 10) 有馬雅史, 湯川龍雄, 寺師義典, 牧野莊平: モルモット気道アレルギーにおける遅発型反応とヒスタミンに対する cyclosporin A の効果. *日胸疾会誌* **29**, 1089-1095, 1991.
- 11) Wasserman, M.A.: Bronchopulmonary pharmacology of some prostaglandin endoperoxide analogs in the dog. *Eur. J. Pharmacol.* **36**, 103-114, 1976.
- 12) Barnes, P.J., Rodger, I.W. and Thompson, N.C.: Future trend in asthma treatment. In "Asthma Basic Mechanism and Clinical Management" (ed. by P.J. Barnes, I.W. Rodger and N.C. Thompson). Academic Press, San Diego, pp. 751-769, 1988.
- 13) Burhop, K.E., Zee, H.V.D., Bizios, R., Kaplan, J. K. and Malik, A.B.: Pulmonary arterial response to platelet activating factor in awake sheep and the role of cyclo-oxygenase metabolites. *Am. Rev. Respir. Dis.* **134**, 548-554, 1986.
- 14) McCulloch, R.K., Summers, J., Vandogen, R. and Rouse, I.L.: Role of thromboxane A₂ as a mediator of platelet activating factor-induced aggregation of human platelets. *Clin. Science* **77**, 99-103, 1989.
- 15) Lefort, J., Rotilio, D. and Vargaftig, B.B.: The platelet-independent release of thromboxane A₂ by PAF-acether from guinea pig lungs involves mechanisms distinct from those of leukotriene C₄ and bradykinin. *Br. J. Pharmacol.* **82**, 565-575, 1984.
- 16) Rosentreter, U., Boeshagen, H., Seuter, F., Perzborn, E. and Fiedler, V.B.B.: Synthesis and absolute configuration of the new thromboxane antagonist (3R)-3-(4-fluorophenylsulfonamido)-1,2,3,4-tetrahydro-9-carbazolepropanoic acid and comparison with its enantiomer. *Arzneim. Forsch.* **39**, 1519-1521, 1989.
- 17) McKenniff, M.G., Norman, P., Cuthbert, N.J. and Gardiner, P.J.: BAY u3405, a potent and selective thromboxane A₂ receptor antagonist on airway smooth muscle *in vivo*. *Br. J. Pharmacol.* **104**, 585-590, 1991.
- 18) Francis, H.P., Greenham, S.J., Patel, U.P., Thompson, A.M. and Gardiner, P.J.: BAY u3405 an antagonist of thromboxane A₂- and prostaglandin D₂- induced bronchoconstriction in the guinea-pig. *Br. J. Pharmacol.* **104**, 596-602, 1991.
- 19) Darius, H., Michael-Hepp, J. and Meyer, J.: Receptor binding properties of the new and specific thromboxane receptor antagonist BAY u3405. *Agent Actions* (Suppl 37), 157-161, 1992.
- 20) Theis, J.G.W., Dellweg, H., Perzborn, E. and Gross, R.: pH-dependent binding of the TXA₂/PGH₂ receptor of human platelet membranes to various ligands. *Agent Actions* (Suppl

- 37), 222-227, 1992.
- 21) 寺師義典, 湯川龍雄, 福田 健, 牧野莊平: モルモット気道アレルギーにおける遅発型喘息反応の出現とその発症因子に関する基礎的研究 I: 同種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の比較検討. *アレルギー* 37, 980-991, 1988.
 - 22) Terashi, Y., Yukawa, T., Motojima, S. and Makino, S.: Effect of AH21-132 on bronchial responses and eosinophilic accumulation in the lungs after exposure to the antigen in a guinea pig model of bronchial asthma. In "Eosinophil in Asthma" (ed. by J. Morley, I. Corditz), Academic Press Limited, London, pp. 213-217, 1989.
 - 23) Sanjar, S., Smith, D., Kings, M. and Morley, J.: Pretreatment with rh-GM-CSF, but not rh-IL3, enhances PAF-induced eosinophil accumulation in guinea pig airway. *Br. J. Pharmacol.* 100, 399-400, 1990.
 - 24) Tajafugi, S., Bischoff, S.C., De Weck, A.L. and Dahinden, C.A.: IL3 and IL5 prime normal human eosinophils to produced leukotriene C4 in response to silbile agonists. *J. Immunol.* 147, 3855-3861, 1991.
 - 25) Sehmi, R., Wardlaw, A.J., Kurihara, K., Waltman, P. and Kay, A.B.: Interleukin-5 selectively enhances the chemotactic response of eosinophils obtained from normal but not eosinophilic subjects. *Blood* 79, 2952-2959, 1992.
 - 26) Warringa, R.A., Mengelers, H.J., Kuijper, J.A., Bruijnzeel, P.L. and Koenderman, L.: *In vivo* priming of platelet-activating factor-induced eosinophil chemotaxis in allergic individuals. *Blood* 79, 1836-1841, 1992.
 - 27) Smooth, L.J., Rubbing, A.E. and Pattern, R.: Mechanism of platelet-activating factor-induced bronchoconstriction in human. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137, 1015-1019, 1988.
 - 28) Spencer, D.A., Evans, J.M., Geen, S.E., Piper, P. J. and Costello, J.F.: Participation of the cysteinyl leukotrienes in the acute bronchoconstrictor response to inhaled platelet-activating factor in man. *Thorax* 46, 441-445, 1991.
 - 29) Bonnet, J., Thibaudau, D. and Bessin, P.: The role of lipoxygenase and cyclooxygenase pathway in PAF-acether induced bronchospasms in the guinea pig. In "Platelet-Activating Factor and Structurally-Related Ether-Lipids" (ed. by J. Benveniste, B. Arnoux), INSERM Symposium No. 23, 11 Amsterdam, 1983.
 - 30) Lawson, A. and Cavero, I.: Characterization of PAF-induced hyperresponsiveness of the guinea pig trachea to potassium. *Br. J. Pharmacol.* 93, 76, 1988.
 - 31) Pretolani, M., Lefort, J., Dumarey, C. and Vargaftig, B.B.: Role of lipoxygenase metabolites for the hyperresponsiveness to platelet-activating factor of lungs from actively sensitized guinea pigs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 248, 353-359, 1988.
 - 32) Inoue, H., Aratani, H., Takishima, T., Kago-shima, M., Iwahisa, Y., et al.: Effect of a PAF antagonist, Y-24180, on an allergen-induced late asthmatic response in guinea pig. *J. Lipid. Mediat.* 5, 173-176, 1992.
 - 33) Sugawara, T., Imanishi, N. and Morooka, S.: Effect of the selective PAF antagonist SM-10661 on an asthmatic model. 2. Effect on antigen-induced dual asthmatic response and infiltration of leukocytes into airways in actively sensitized conscious guinea pigs. *Lipids* 26, 1305-1309, 1991.
 - 34) Iwamoto, I., Ra, C., Sato, T., Tomioka, H. and Yoshida, S.: Thromboxane A2 production in allergen-induced immediate and late asthmatic responses. Its possible role in inducing the late response. *J. Asthma* 25, 117-124, 1988.
 - 35) 井上洋西, 谷 典生, 飯島秀弥, 五十嵐敦, 岡田信司, 他: thromboxane A2 受容体拮抗薬 BAY u3405 のモルモット遅発型喘息反応に対する効果. *アレルギー* 42, 205-213, 1993.
 - 36) Pignol, B., Henane, S., Chaumeron, S., Menica-Huerta, J.M. and Braquet, P.: Modulation of the priming effects of platelet-activating factor on the release of innerleukin-1 from lipopolysaccharide-stimulated rat spleen macrophages. *J. Lipid. Mediat.* (Suppl 2), 93-99, 1990.
 - 37) Poubelle, P.E., Gingras, D., Demers, C., Dubois, C., Harbour, D., et al.: Platelet-activating factor (PAF-acether) enhances the concomitant production of tumor necrosis factor -alpha and interleukin-1 by subsets of human monocytes. *Immunology* 72, 182-187, 1991.
 - 38) Kameyoshi, Y., Schroder, J.M., Christophers, W. and Yamamoto, S.: Identification of the cytokine RANTES released from platelets as an eosinophil chemotactic factor. *Int. Arch. Allergy Immunol.* (Suppl 104), 49-51, 1994.

EFFECT OF BAY u3405-THROMBOXANE A₂ RECEPTOR ANTAGONIST, ON BIPHASIC
AIRWAY RESPONSES INDUCED BY PLATELET-ACTIVATING FACTOR
IN ACTIVELY SENSITIZED GUINEA PIGS

Masafumi Arima, Tatsuo Yukawa, Takeshi Fukuda and Sohei Makino

Department of Allergy and Clinical Immunology, Dokkyo University School of Medicine

Our previous study in activity sensitized guinea pigs demonstrated an LAR-like increase in respiratory resistance (Rrs) at 3 to 9 hr after PAF inhalation. The result suggested possible involvement of the priming effect of active sensitization and PAF. Mean while, thromboxane A₂ (TXA₂) is known to be induced by PAF. The present study investigated the involvement of TXA₂ in the guinea pig LAR model with a new TXA₂ receptor antagonist, BAY u3405. One hr after BAY u3405 administration to guinea pigs sensitized by ovalbumin, the Rrs following inhalation of PAF was subsequently determined. Infiltration of inflammatory cells in the airway tissue 9 hr after PAF inhalation was also observed. While a re-increase in Rrs was found in all the cases in the control group, the re-increase in Rrs was inhibited significantly in the BAY u3405 administration group, 4 to 9 hr after PAF inhalation. The numbers of eosinophils and lymphocytes in the airway tissue were significantly decreased in the BAY u3405 administration group, as compared with the control group. From these results, the possibility is suggested that TXA₂ and its direct effect on the airway and the migration-enhancing effect on eosinophils and T lymphocytes, as well as PFA, are involved in the development of LAR by PAF.
