

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

獨協医科大学アレルギー内科

有馬雅史 湯川龍雄 寺師義典

相良博典 牧野莊平

これまでに我々は、感作モルモット抗原暴露後の遅発型気道反応 (LAR) の出現に好酸球の浸潤と活性化、また、それを誘導する化学伝達物質として抗原暴露により生じた PAF の関与を支持する報告を行ってきた。今回同感作モルモットに外因性に投与した PAF によっても類似の LAR が再現し得るか検討した。さらに気道粘膜の組織学的検討も行った。卵白アルブミン連続反復吸入暴露による能動感作モルモット群の吸入 PAF に対する呼吸抵抗 (Rrs) の dose-response curve は、非感作群のそれに対して有意に左ヘシフトし、吸入 PAF に対する気道反応性の亢進を認め、各群の PC_{200} PAF, すなわち baseline Rrs の 2 倍を示す PAF 吸入液濃度は感作群で $780 \pm 94.3 \mu\text{g/ml}$, 非感作群で $3800 \pm 604.9 \mu\text{g/ml}$ であった。また各群の PC_{200} PAF で示される PAF をそれぞれ吸入させた後の Rrs の経時的变化を測定したところ、能動感作群でのみ 6 例中 4 例に吸入 3~9 時間後に明らかな Rrs の上昇を認めた。以上感作動物においては、外因性に吸入させた PAF によっても抗原暴露同様、LAR が誘発され、PAF および能動感作という priming 効果が LAR の出現に重要であることが示唆された。

Key words: active sensitization — airway hyperresponsiveness (AH) — late asthmatic response (LAR) — platelet-activating factor (PAF) — T-cell factor

緒言

気管支喘息症例の抗原暴露後の遅発型気道反応 (LAR) 及び気道過敏性 (AH) の亢進は、臨床的、病理学的には慢性難治性喘息発作に極めて類似しており、その病態を解明することは重要である。最近 LAR や AH の亢進の発現に、気道の炎症の関与が注目され、特に抗原暴露後に産生された PAF と気道内好酸球の関与が示唆されている。

我々は、すでに能動感作モルモット LAR 出現モデルを用いて、抗原暴露後の LAR, AH の亢進の PAF 及び活性化された好酸球に加え T-細胞機能が重要であることを報告¹⁾²⁾している。

1986年 Henoq ら³⁾はアトピー患者、正常健常人の皮

膚に PAF の局所投与を行いアトピー患者のみに好酸球優位の浸潤を認めたと報告し、アレルギー疾患における PAF の選択的な好酸球の遊走や活性化は、その病態を解明するうえで重要であることを指摘している。

今回、我々はアトピー型喘息モデルとして先に述べたモルモット能動感作モデルを用いて、外因性に投与した PAF 吸入暴露により抗原暴露と同様に気道への好酸球浸潤及び LAR が出現し得るか否かを検討した。

材料および方法

1. 感作モルモットの作成

体重約300g の Hartley 系雄モルモット (ドーケンより購入) を既に我々が発表した方法⁴⁾にしたがって、卵白アルブミン (OA: Sigma, Grade V) で吸入感作した。すなわち、我々の作成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って抗原希釈 nebulizer 液の流入が行え、aspirator で outflow を同一に設定してあり、同時

Received: October 9, 1991

Accepted: March 4, 1992

Abbreviations: AH airway hyperresponsiveness; CsA cyclosporine A; EpDRF epithelial deriving relaxing factor; IAR immediate asthmatic response; LAR late asthmatic response; OA ovalbumin; PAF platelet-activating factor; Rrs respiratory resistance

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, メイコー社製 glass nebulizer にて1日1回, 10mg/ml の OA を 6l/min で10分間, 毎日連続反復吸入暴露を繰り返す, 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, 初期感作成立を確認した。その後インターバルを週に1回とあけて10mg/ml の OA を 5分間ブースター吸入を行った。感作の成立は, ブースター吸入1週間後, 耳朶採血し, PCA 反応によっても確認した。PCA 反応は Ovary らの方法に従い, 感作モルモット血清の希釈系列を体重約300g の未感作モルモットの臀部皮膚に各0.1ml 皮内投与し, OA 500 μ g と 1% Evans Blue 液 1ml を静注し, 30分後に直径8mm 以上青色化したものを陽性として判定した。48時間および7日間の PCA titer いずれも160倍以上を示した。

2. 呼吸抵抗の測定

呼吸抵抗 (Rrs; respiratory resistance) の測定は, Mead ら⁵⁾ の oscillation 法を一部改変して行った。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, モルモットの頸部固定部位は, ゴム製ドーナツ上の balloon で作成され密封可能) 内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 121~70, woofer speaker に接続し, sine 波を発生) 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 MO45-18) によって取り出し, 増幅器 (シズメメディカル社製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 吸入液濃度の決定と LAR の検討

まず吸入感作成立後, 2回目のブースター吸入終了後1週間後に吸入 PAF 濃度に対する Rrs の dose-response curve を作成した。すなわちモルモットを前述の animal chamber 内に入れ, まず生理的食塩水の aerosol を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10mg/ml に溶解した C₁₆合成 PAF (Bechem 社製) に生理的食塩水を加え作成した PAF 吸入液を, 150 μ g/ml から2倍希釈系列で順次高濃度をインターバルを1時間とあけて, それぞれ1分間ずつ吸入させ, 各 group におけるすべてのモルモットの Rrs の平均が前の baseline 値より2倍以上になったときを閾値とした。縦軸を Rrs のパーセント変化率, 横軸に PAF 吸入液濃度をプロットし, その dose-response curve 上で Rrs が2倍となったときの PAF 濃度, PC₂₀₀ を求めた。

各群について決定した PC₂₀₀ の PAF 吸入液を能動感作後, ブースターを2回行った別の感作群および非感作群でそれぞれ1分間吸入させた後, 1時間ごとに9時間後まで経時的に Rrs を測定した。その後, モルモットを脱血死させ, 気管, 肺を摘出して10%ホルマリン液で固定し, 組織学的検討に用いた。プロトコルを Fig. 1 に示す。

4. 統計

実験データは, 全て mean $\pm$ SEM で表現し, それぞれの実験に使用した動物匹数 (n) は6~8である。有意差の検討は, Student's t-test を用い, P-value は<0.05を有意と考えた。

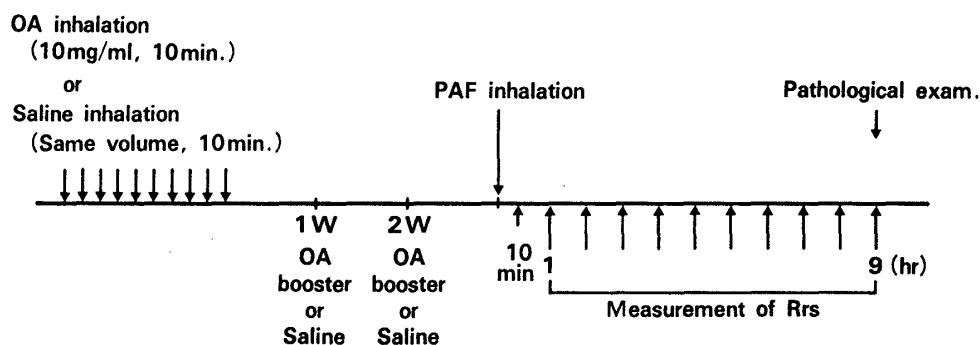


Fig. 1. Protocol for the study of airway responses to inhaled PAF in non-sensitized and actively sensitized guinea pigs.

結 果

1. 感作群, 非感作群の PC_{200} PAF

各群における PAF の dose-response curve を Fig. 2 に示す。 PC_{200} PAF は感作群, 非感作群でそれぞれ 780, 3800 $\mu\text{g/ml}$ であり, 感作群の dose-response curve は非感作群のそれに対して左へシフトしていた。すなわち, 能動感作群では, 非感作群に比べて吸入 PAF に対する気道反応性が亢進していた。

2. PAF 吸入後の Rrs の変化

感作の過程において 2 回目のブースター吸入終了 1 週間後の PC_{200} PAF 吸入後の Rrs の経時的変化を Fig. 3(A) に示す。感作群, 非感作群のそれぞれの baseline Rrs は 0.19 ± 0.01 および $0.20 \pm 0.02 \text{ cmH}_2\text{O/ml/sec}$ であり有意差は認められなかった。感作群, 非感作群にそれぞれ PC_{200} PAF すなわち 780 および 3800 $\mu\text{g/ml}$ を吸入させると, 即時型気道収縮 (IAR) としてそれぞれ 0.38 ± 0.05 , $0.39 \pm 0.05 \text{ cmH}_2\text{O/ml/sec}$ と各群とも baseline の約 2 倍の有意な Rrs の上昇が認められたが, その程度は両群間において有意差はなく, 先に求めた感作群, 非感作群の PAF dose-response

curve とほぼ一致した IAR が認められた。

一方, その後の Rrs の経時的変化に関しては, 非感作群では PAF 吸入誘発後に有意な Rrs の再上昇を認めなかったが, 感作群では, PAF 吸入後の 3 ~ 6 時間および 3 ~ 7 時間後に baseline, 非感作群それぞれに対して有意な Rrs の増加を認め, 6 例中 4 例に Rrs の増加率が 100% 以上を示す LAR が認められた。その結果を Fig. 3(B) に示す。

3. PAF 吸入後の組織学的検討

Fig. 4 に PAF 吸入 9 時間後の感作群 (上), 非感作群 (下) の典型的気管組織切片を示す。

PAF 吸入前の気管上皮, 上皮下の baseline の好酸球数は, 上皮では感作群で $70.8 \pm 7.5 \text{ cell/mm}^2$, 非感作群で $40.3 \pm 3.5 \text{ cell/mm}^2$, 上皮下では感作群で $111.8 \pm 8.2 \text{ cell/mm}^2$, 非感作群で $34.5 \pm 2.3 \text{ cell/mm}^2$ であり, 非感作群に対して感作群は上皮, 上皮下いずれにおいても有意に増加していた。

感作群では非感作群に比べ低濃度の PAF 吸入にて, 気道上皮, 上皮下に著しい好酸球浸潤を認めた。Fig. 5 に各群における PAF 吸入 9 時間後の baseline に対する好酸球浸潤の増加率を気道上皮, 上皮下別に示す。非感作群の増加率は上皮, 上皮下でそれぞれ $148.3 \pm 30.2\%$, $203.3 \pm 103.2\%$, 感作群の増加率は $1093.2 \pm 200.3\%$, $410.3 \pm 100.2\%$ であり能動感作による明らかな好酸球浸潤の増強効果を認めた。

考 察

以上 OA 連続反復吸入暴露による能動感作モルモットにおける PAF 吸入後の LAR の出現, および気道粘膜の好酸球浸潤の増強を認めたことを報告した。

今回, 我々の実験では感作, 非感作モルモットいずれにおいても PAF 吸入後に明らかな IAR を認めているが, 現在 PAF による気道収縮のメカニズムは明らかでない。Takizawa ら⁹⁾は, 我々の実験で用いたモルモットとほぼ同体重と思われる非感作モルモットに対して 5 分間で約 825 μg の PAF を吸入しても明らかな気道収縮を認めなかったことを報告している。一方, 今回の実験では, PAF 投与中に PAF に対する脱感作が生じる可能性を考慮し, 吸入時間を 1 分間と短縮し, 非感作モルモットの場合約 4800 μg 以上の PAF 吸入投与直後に気道収縮を認めていることから, PAF 吸入による IAR の出現には, その投与量および投与時間が

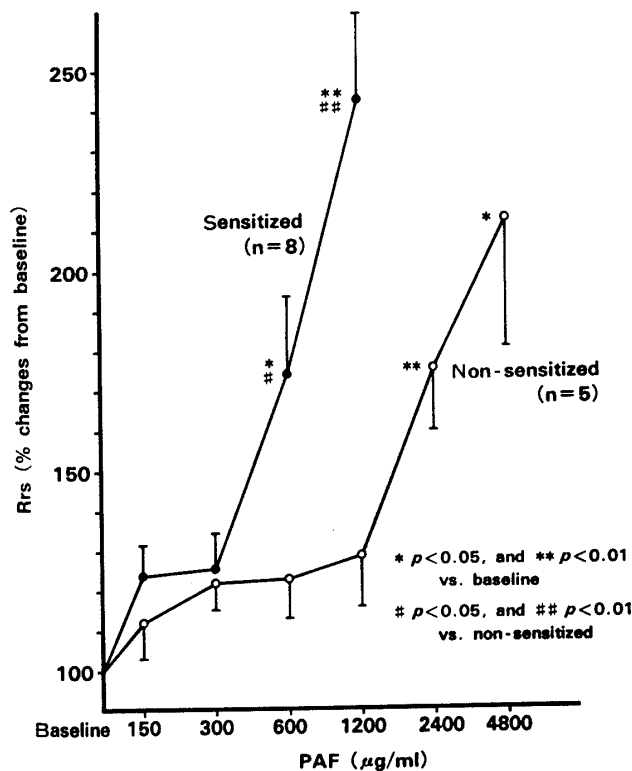
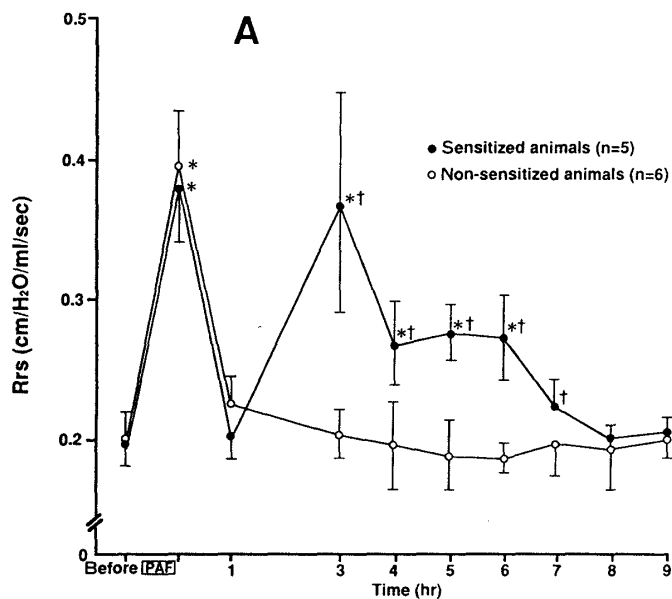


Fig. 2. Effects of PAF inhalation on respiratory resistance (Rrs) in non-sensitized (○) and actively sensitized guinea pigs (●).



影響すると考えられる。

また、今回の実験の中で、PAFの dose-response curveを作成する上で使用した各 PAF 吸入液中のエタノールの濃度は PAF 濃度が高いほど高濃度になることから、エタノールの呼吸抵抗に対する影響について検討が必要である。我々の予備実験では、能動感作、及び非感作モルモットに対して、同実験で用いた各 PAF 吸入液と同じ濃度のエタノール吸入液を吸入させたところ、両群いずれにおいても呼吸抵抗の有意な変化を認めなかったことから、今回の実験では PAF 吸入後の呼吸抵抗の変化に対してエタノールは影響を及ぼさないと考えられる。

喘息患者の抗原暴露後の LAR における気管支肺胞洗浄液中の著明な好酸球の増加⁷⁾⁻⁹⁾やヒト¹⁰⁾¹¹⁾または動物モデル⁴⁾における抗原暴露後の気道粘膜上皮の好

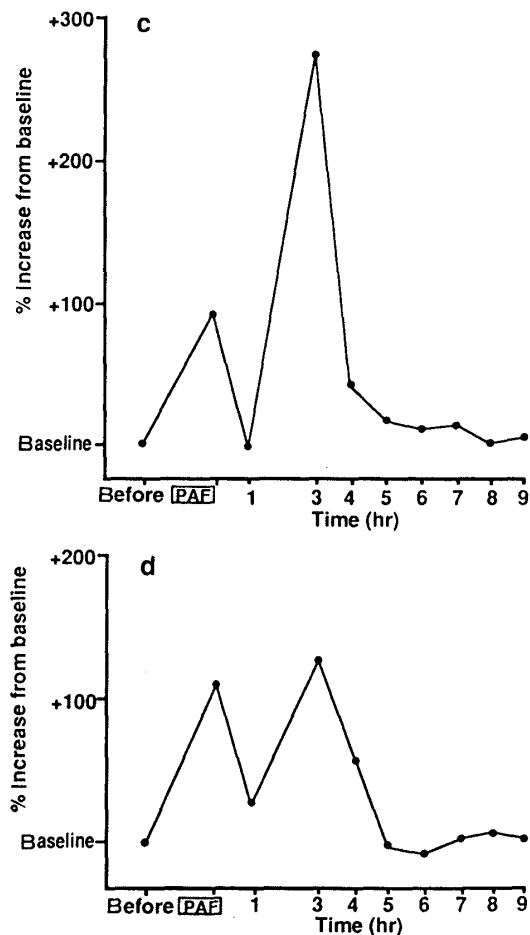
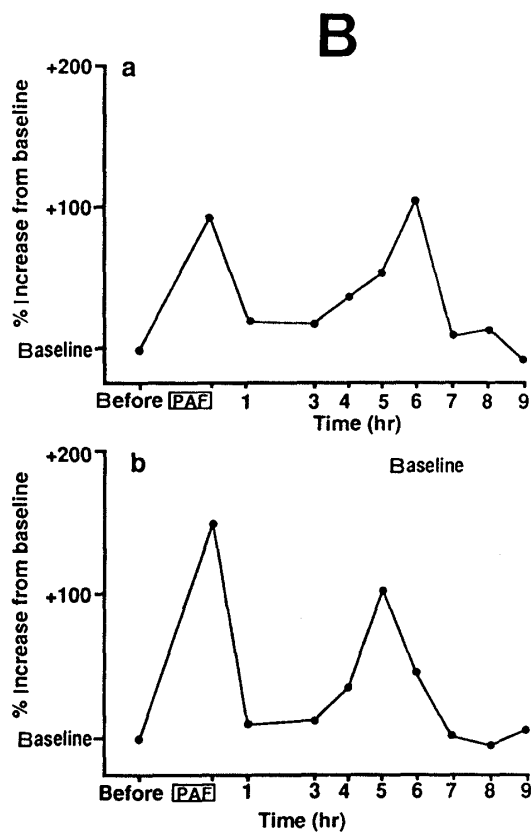


Fig. 3. A) Changes in respiratory resistance (Rrs) after PAF inhalation in non-sensitized (○) and actively sensitized guinea pigs (●). (* $p < 0.05$ V.S. baseline Value, t: $p < 0.05$ V.S. control)

B) Development of LAR after PAF inhalation in sensitized guinea pigs.



Fig. 4. Light microscopic pictures of the bronchial tissues in OA-sensitized (upper) and non-sensitized guinea pigs (lower) 9hrs after PAF inhaled exposure. (Stained with Giemsa; original magnification $\times 400$; EP: epithelium, BM: basement membrane, LP: lamina propria)

酸球の著明な浸潤は、特徴的な所見の一つであるが、現在、抗原暴露後の AH の亢進および LAR の出現には、気道の炎症¹²⁾や気道上皮破壊の関与が示唆され、その病態に好酸球の遊走や、活性化が重要な役割を演じていることが示唆されている。

一方、PAF は近年、気管支喘息患者の抗原暴露後の LAR の出現に関する重要な脂質メディエーターの一つであることが幾つかの報告より示唆されている。我々は、最近、モルモット LAR 出現モデルに特異的 PAF 受容体拮抗剤である WEB 2086 を前投与することにより抗原暴露後の LAR および気道粘膜の好酸球浸潤を有意に抑制したことを報告している¹⁾。PAF と好酸球との interaction に関しては、in vitro における強力な遊走活性、血管内皮細胞の adhesion の増強¹³⁾、 LTC_4 や oxygen free radicals¹⁴⁾ の産生、EPO や ECP の遊離¹⁵⁾、低比重化¹⁶⁾、及びモルモットの cilia に対する cytotoxicity の増強¹⁷⁾などが報告されている。更に、MBP や ECP などの cytotoxic eosinophil granule proteins は肥満細胞からの histamine を遊離させる作用¹⁸⁾⁻²⁰⁾が知られており、また、好酸球自体 PAF の豊富な産生能力²¹⁾が報告されていることより、自ら産生した PAF により更に遷延性の好酸球の活性化が惹起される可能性が示唆されている。これら活性化された好酸球の様々な作用は、気道炎症に伴う気道内腔狭小化、気道上皮破壊による epithelial deriving relaxing factor (EpDRF) の損失や irritant receptor, C-fiber の露出及び機能亢進などを惹起し、AH の亢進や LAR

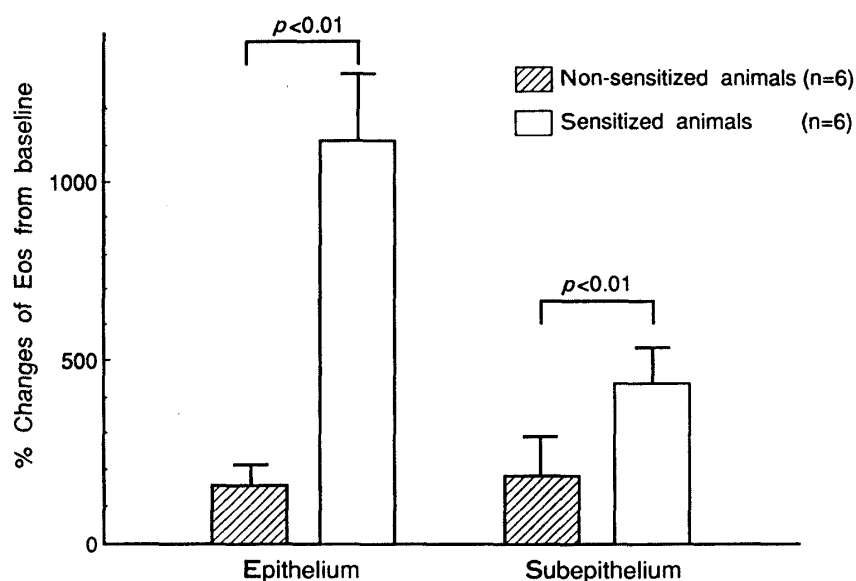


Fig. 5. PAF-induced increase in the number of eosinophils in the bronchi in sensitized (□) and non-sensitized guinea pigs (▨).

の出現に寄与するものと考えられている。

PAF には種々の動物の肺に対して抗原を暴露したときと同様に好酸球浸潤を惹起することが認められている。Takizawa⁶⁾や Vargaftig ら²²⁾は、正常モルモットに対して PAF 静注後の肺組織中に好酸球浸潤を認めており、今回、我々の実験でも投与経路は異なるものの、また、程度は違うものの PAF 吸入投与後に肺組織に同様の好酸球浸潤を認めた。さらに、喘息を合併しないアトピー患者と比較して、喘息患者の好酸球は PAF に対する反応性が亢進している²³⁾ことが報告されており、気管支喘息における好酸球は、PAF に対してより活性化されやすい状態にある可能性が示唆されている。近年、好酸球を regulate する細胞として、リンパ球、とりわけ helper T-cell の重要性が指摘され、LAR との関係が示唆されている。ヒトの皮内への抗原暴露後の遅発型皮膚反応では、局所において CD₄⁺リンパ球、IL-2 receptor の発現および EG2陽性好酸球の増加²⁴⁾が認められていることにより、helper T-cell と活性化好酸球の相互作用が示唆されている。また、気管支喘息患者の抗原暴露後の遅発相における気管支肺胞洗浄液において、好酸球と共にリンパ球の増加が認められており、LAR の出現に CD₄⁺リンパ球の関与が示唆され、CD₈⁺リンパ球は、その出現に対し抑制的に作用している²⁵⁾²⁶⁾可能性が示唆されている。

感作モルモットの抗原暴露後の遅発相の気道粘膜に好酸球と T リンパ球の浸潤²⁷⁾が観察されているが、最近我々は、モルモット喘息モデルにおいて強力な helper T-cell suppressant である cyclosporine A を前処置することにより抗原暴露後の LAR および気道粘膜の好酸球浸潤を有意に抑制したことを報告²⁾している。また、今回の実験で能動感作モルモットでは、非感作モルモットに比較し、少量の PAF を吸入したにもかかわらず抗原暴露した時とほぼ同様の約70%の出現率で LAR と著しい好酸球浸潤を認めたことから、抗原暴露後の LAR および気道粘膜の好酸球浸潤には、PAF および能動感作、すなわち T リンパ球機能が関与している可能性が示唆される。また、喘息患者の AH に対しても T リンパ球が関与していることが示唆されている²⁸⁾。今回の実験でも正常モルモットに比較し、能動感作モルモットにおいて吸入 PAF に対する気道反応性の亢進を認めており、また Pretolani ら²⁹⁾は OA 皮内投与による能動感作モルモットの摘出肺灌流標本に対して PAF の肺動脈投与後の気道収縮の増強、TXB₂, histamine, LTC₄様物質の産生の亢進

を報告している。このような能動感作という priming 効果による PAF の生物活性の増強には、感作によって T リンパ球から生じた IL-3, IL-5, GM-CSF などのサイトカインが関与している可能性が考えられ、おそらくこれらサイトカインは、気管肺組織や好酸球などの target cell 上の PAF receptor の density や affinity あるいは PAF による細胞内情報伝達系や calcium mobilization を modulate する可能性が考えられ、今後検討していく必要があると思われる。

結 語

感作動物においては、外因性に吸入させた PAF によっても抗原暴露同様、LAR が誘発され、PAF および能動感作という priming 効果が LAR の出現に重要であることが示唆された。

文 献

- 1) 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 WEB 2086 の影響. アレルギー 40, 141-146, 1991.
- 2) Arima, M., Yukawa, T., Terashi, Y. and Makino, S.: Cyclosporine A inhibits allergen-induced late asthmatic response and increase of airway hyperresponsiveness in guinea pigs. *Am. Rev. Respir. Dis.* 141, A733, 1990.
- 3) Henoq, E., Vargaftig, B.B.: Accumulation of eosinophils in response to intracutaneous PAF-acether and allergen in man. *Lancet* 1, 1378-1389, 1986.
- 4) 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.
- 5) Mead, J.: Control of respiratory frequency. *J. Appl. Physiol.* 15, 325-336, 1960.
- 6) Takizawa, H., Ishii, K., Suzuki, S., Shida, J. and Miyamoto, T.: Bronchoconstriction induced by platelet-activating factor in the guinea pig and its inhibition by CV-3988, a PAF antagonist: Serial changes in findings of lung histology and bronchoalveolar lavage cell population. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 86,

- 375-382, 1988.
- 7) Flint, K.C., Leung, K.B.P., Hudspith, B.N., Brostoff, J., Pearce, F.L. and Johnson, N.M.: Bronchoalveolar mast cells in extrinsic asthma; a mechanism for the initiation of antigen-specific bronchoconstriction. *Br. Med. J.* 291, 923-926, 1985.
 - 8) Metzger, W.J., Zavala, D., Richerson, H.B., Mosely, P. and Hunninghake, G.W.: Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic lungs. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135, 433-440, 1987.
 - 9) De Monchy, J.G.R., Kauffman, H.F., Venge, P., Koefer, G.H. and Sluiter, H.J.: Bronchoalveolar eosinophils during allergen-induced late asthmatic reactions. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131, 373-376, 1985.
 - 10) Beasley, R., Roche, W.R., Roberts, J.A. and Holgate, S.T.: Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139, 806-817, 1989.
 - 11) Lozewick, S., Gomez, E., Ferguson, H. and Davis, R.J.: Inflammatory cells in the airways in mild asthma. *Br. Med. J.* 297, 1515-1516, 1988.
 - 12) Hutoson, P.A., Church, M.K., Clay, T.P., Miller, P. and Holgate, S.T.: Early and late-phase bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pig. I. The association of disordered airway physiology to leukocyte infiltration. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137, 548-557, 1988.
 - 13) Kimani, G., Tonnesen, M.G. and Henson, P.M.: Stimulation of eosinophil adherence to human vascular endothelial cells in vitro by platelet-activating factor. *J. Immunol.* 140, 3161-3166, 1988.
 - 14) Bruynzeel, P.L., Koenderman, L., Kok, P.T., Hameling, M.L. and Verhagen, J.: Platelet-activating factor (PAF-acether)-induced leukotriene C4 formation and luminol dependent chemiluminescence by human eosinophils. *Pharmacol. Res. Commun.* 18, 61-69, 1986.
 - 15) Kroegel, C., Yukawa, T., Dent, G., Vengo, P., Ching, K.F. and Barnes, P.J.: Stimulation of degranulation from human eosinophils by platelet-activating factor. *J. Immunol.* 142, 518-526, 1989.
 - 16) Yukawa, T., Kroegel, C., Evan, P., Fukuda, T., Chung, K.F. and Barnes, P.J.: Density heterogeneity of eosinophil leukocytes by platelet-activating factor. *Immunology* 68, 140-143, 1989.
 - 17) Yukawa, T., Read, R.C., Rutman, A., Ching, K.F., Wilson, R., et al.: The effects of activated eosinophils and neutrophils on guinea pig airway epithelium in vitro. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2, 341-353, 1990.
 - 18) O'Donnell, M.C., Ackerman, S.J., Gleich, G.J. and Thomas, L.L.: Activation of basophil and mast cell histamine release by eosinophil granule major basic protein. *J. Exp. Med.* 157, 1981-1991, 1983.
 - 19) Zheultin, L.M., Ackerman, S.J., Gleich, G.J. and Thomas, L.L.: Stimulation of basophil and mast cell histamine release by eosinophil granule-derived cationic protein. *J. Immunol.* 133, 2180-2185, 1984.
 - 20) Henderson, W.R., Chi, E.Y. and Klebanoff, S.J.: Eosinophil peroxidase induced mast cell secretion. *J. Exp. Med.* 152, 265-279, 1980.
 - 21) Lee, T.C., Lenihan, D.J., Malone, B., Roddy, L.L. and Wasserman, S.I.: Increased biosynthesis of platelet-activating factor in activated human eosinophils. *J. Biol. Chem.* 259, 5526-5530, 1984.
 - 22) Lellouch-Tubiana, A., Lefort, J., Pirotzky, E., Vaguftig, B.B. and Pfister, A.: Ultrastructural evidence for extravascular platelet recruitment in the lung upon intravenous injection of platelet-activating factor (PAF-acether) to guinea pigs. *Br. J. Exp. Pathol.* 66, 345-355, 1985.
 - 23) Chanez, P., Dent, G., Yukawa, T., Ching, K.F. and Barnes, P.J.: Increased eosinophil responsiveness to platelet-activating factor in asthma. *Clin. Sci.* 75, 5P, 1988.
 - 24) Frew, A.J. and Kay, A.B.: The relationship between infiltrating CD₄⁺ lymphocytes, activated eosinophils, and magnitude of the allergen induced late phase cutaneous reaction in man. *J. Immunol.* 141, 4158-4164, 1988.
 - 25) Gonzalez, M.C., Diat, P., Galleguillos, F.R., Ancic, P. and Kay, A.B.: Allergen-induced recruitment of bronchoalveolar helper (OKT4) and suppressor (OKT8) T-cell in asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 136, 600-604, 1987.
 - 26) Metzger, W.J., Zavala, D. and Richerson, H.B.: Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of the model and local airway inflammation. *Am. Rev. Respir. Dis.* 135, 433-440, 1987.
 - 27) Frew, A.J., Moqbel, R., Azzawi, M., Hartnell, A. and Holgate, S.T.: T lymphocytes and eosinophil in allergen-induced late-phase asthmatic reactions in the guinea pig. *Am. Rev. Respir.*

- Dis.* 141, 407-413, 1990.
- 28) Azzawi, M., Bradley, B., Jeffery, P.K., Frew, A. J. and Kay, A.B.: Identification of activated T lymphocytes and eosinophil in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 142, 1407-1413, 1990.
- 29) Pretolani, M., Lefort, J., Dumarey, C. and Vargaftig, B.B.: Role of lipoxygenase metabolite for the hyperresponsiveness to platelet-activating factor in guinea pigs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 248, 353-359, 1987.

PLATELET ACTIVATING FACTOR (PAF)-INDUCED LATE ASTHMATIC RESPONSE IN SENSITIZED BUT NOT IN NON-SENSITIZED GUINEA PIGS

Masafumi Arima, Tatsuo Yukawa, Yoshinori Terashi, Hironori Sagara and Sohei Makino
Department of Medicine and Clinical Immunology, Dokkyo University School of Medicine

We have recently demonstrated that pretreatment with WEB 2086, a specific PAF antagonist or cyclosporine A (CsA), a potent helper T cell suppressant, resulted in preventing the development of late asthmatic response (LAR) and increase of airway hyperreactivity (AH) in guinea pig experimental models of asthma. We have now examined whether exogenously applied PAF causes LAR in these models in vivo. The respiratory resistance (Rrs) of guinea pigs was measured by an oscillation technique and histological studies of the bronchi were also made. Guinea pigs, actively sensitized by repeated antigen (ovalbumin; OA) inhalation, showed a leftward shift of the inhaled PAF dose response curve of Rrs compared with that in control animals, indicating that the sensitized animals were more sensitive to inhaled, PAF. PC_{200} PAF, which indicate provocative concentrations of PAF aerosols causing a 200% increase in the baseline Rrs, were $3800 \pm 604.9 \mu\text{g/ml}$ and $780 \pm 94.3 \mu\text{g/ml}$, in the control and sensitized animals, respectively. The same magnitude of immediate bronchoconstriction after 780 and 3800 $\mu\text{g/ml}$ of PAF exposure was observed in the actively sensitized and non-sensitized control animals, respectively. However, LAR developed 4 out of 6 animals only in the sensitized guinea pigs. We conclude that both exogenously applied PAF by inhalation and antigen exposure are capable of inducing LAR in sensitized guinea pigs, and thus the priming effect of immunization and PAF may contribute to the development of LAR observed in asthma.