

モルモット喘息モデルの抗原誘発気道過敏性亢進と 気道炎症における脂質メディエーターの役割

金沢大学医学部内科学第三教室

橘 秀樹

能動感作モルモットに抗原を吸入負荷し、24 時間後のメサコリン気道過敏性亢進と気道炎症細胞浸潤に対するトロンボキサン(TX)A₂ 受容体拮抗薬 (S-1452), システニル・ロイコトリルエン (cLT) 受容体拮抗薬 (ICI-198, 615), 血小板活性化因子 (PAF) 受容体拮抗薬 (E-6123) の影響を検討した。S-1452 (1, 10 mg/kg), ICI-198, 615 (0.5, 5 mg/kg) E-6123 (1, 10 µg/kg) または各々の vehicle を抗原吸入の 1 時間前と 11 時間後に腹腔内投与した。3 薬剤とも気道過敏性亢進を用量依存的に抑制した。気管支肺胞洗浄細胞成分の検討では、S-1452 は総細胞数の増加を非特異的に抑制し、ICI-198, 615 は総細胞数の増加と好酸球比率の増加を抑制したが、E-6123 は影響しなかった。TXA₂ は気道の血管透過性亢進に、cLT は血管透過性亢進と好酸球の遊走に関与しているが、PAF は炎症細胞浸潤に明らかな役割を果たしていないことが示唆された。

Key words : bronchial hyperresponsiveness — cysteinyl leukotriene — platelet activating factor — thromboxane A₂

はじめに

気道過敏性の亢進 (bronchial hyperresponsiveness; BHR)¹⁾と慢性の好酸球性気道炎症²⁾は気管支喘息の基本病態であり、これらの病態における脂質メディエーターの関与が明らかになりつつある³⁾。喘息病態における脂質メディエーターの役割を解明することは、喘息治療の進歩にも寄与する。

喘息患者の BHR には、基礎的 BHR と抗原誘発 BHR がある。基礎的 BHR における脂質メディエーターの関与に関しては、thromboxane (TX) A₂ が関与している^{4) - 7)}との報告が多いが、TXA₂ 受容体拮抗薬

投与によって基礎的 BHR の改善を認めるものの統計学的に有意差がないとして関与を否定している報告⁸⁾⁹⁾もある。cysteinyl leukotriene (cLT) については、基礎的 BHR に関与しているという報告が 2 報¹⁰⁾¹¹⁾あるのみであり、platelet activating factor (PAF) についても、基礎的 BHR との関与を示唆した報告が 1 報¹²⁾あるのみである。

他方、抗原誘発遅发型喘息反応に伴う BHR における脂質メディエーターの関与については、cLT が抗原暴露 24 時間後の BHR に関与しているという報告が 1 報¹³⁾あるのみである。TXA₂ については、喘息発作時に尿中 TX 代謝産物の有意な増加を認めたという報告¹⁴⁾はあるが、抗原誘発 BHR に関しての報告はない。PAF についても同様に、抗原暴露後に血漿中の PAF の有意な増加を認めたという報告¹⁵⁾はあるが、抗原誘発 BHR に関する報告はなく、患者での検討の難しさを示している。

喘息患者の慢性好酸球性気道炎症における脂質メディエーターの役割については、5-リポキシゲナーゼ阻害薬が気道の好酸球浸潤を抑制したとする報告が 1 報¹⁶⁾と cLT 受容体拮抗薬が気管支肺胞洗浄 (BAL) 液中のリンパ球浸潤を抑制したが、好酸球浸潤には影響しなかったという報告¹⁷⁾があるのみで、cLT が気道炎

Received : February 24, 2000

Accepted : June 21, 2000

Abbreviations : **BAL** bronchoalveolar lavage ; **BHR** bronchial hyperresponsiveness ; **BHR-MCh** bronchial hyperresponsiveness to methacholine ; **cLT** cysteinyl leukotriene ; **CPA** cyclophosphamide ; **DPH** diphenhydramine hydrochloride ; **IAR** immediate asthmatic reaction, immediate airway response ; **OVA** ovalbumin ; **PAF** platelet activating factor ; **Pao** pressure at the airway opening ; **PEG 400** polyethylene glycol 400 ; **sRaw** specific airway resistance ; **TXA₂** thromboxane A₂

症に果たす役割については、明らかとはなっていない。また、TXA₂やPAFの気道炎症に果たす役割についても、未だ明確とはなっていない。すなわち、気道炎症における脂質メディエーターの役割に関しても、喘息患者での検討の困難さが示唆される。

喘息病態の詳細な検討のためには、動物モデルを用いた研究が有用である。モルモット喘息モデルにおいても、抗原暴露後にBHRの亢進と気道への好酸球を主とした炎症細胞浸潤を認めることが知られており¹⁸⁾¹⁹⁾、TXA₂、cLTおよびPAFの関与について様々な検討が行われている。いずれの実験系においても、抗原暴露後のBHRについては、TXA₂、cLT、PAFそれぞれの選択的受容体拮抗薬による抑制が報告されている^{19)–26)}。しかし、気道への炎症細胞浸潤については、抗原暴露の方法や抗原暴露後の検討時間も様々であり、一定の見解は得られていない。さらに、同一の実験系を用いてTXA₂、cLT、PAFの役割をそれぞれの特異的受容体拮抗薬を用いて直接的に比較検討した報告はない。

そこで、最も普遍的に検討されているモルモット喘息モデルを用いて、特異的TXA₂受容体拮抗薬(S-1452)、特異的cLT受容体拮抗薬(ICI-198, 615)および特異的PAF受容体拮抗薬(E-6123)を用いて、抗原誘発BHRと気道炎症におけるTXA₂、cLTおよびPAFの役割を比較検討した。

材料と方法

1. 材料

実験に用いたHartley系雄モルモットは三共ラボサービス(富山)より購入し、恒温(23±2℃)ならびに恒湿(55±5%)の条件下で飼育した。また、cyclophosphamide (CPA)は塩野義製薬(株)(大阪)より、ovalbumin (OVA)はSigma社(USA)より、polyethylene glycol 400 (PEG 400)とdiphenhydramine hydrochloride (DPH)は和光純薬工業(株)(大阪)よりそれぞれ購入した。S-1452 [(+)-(Z)-calcium 7-[(1R, 2S, 3S, 4S)-3-benzenesulfonamidobicyclo[2.2.1]hept-2-yl]-5-heptenoate dihydrate]は塩野義製薬(株)より、ICI-198, 615 [1-[[2-methoxy-4[(phenylsulfonyl)amino]-carbonyl]phenyl]methyl]-1H-indazol-6-yl]carbamic acid cyclophenylesterはゼネカ(株)(大阪)より、E-6123 [(S)-(+)-6-(2-chlorophenyl)-

3-cyclopropanecarbonyl-8, 11-dimethyl-2, 3, 4, 5-tetrahydro-8H-pyrido[4', 3': 4, 5]thieno[3, 2-f][1, 2, 4]triazolo[4, 3-a][1, 4]diazepine]はエーザイ(株)(大阪)より、それぞれ供与を受けた。

2. 方法

1) 感作

3週齢で体重200gの雄性モルモットに、CPA 6mgを1mlの生理食塩水(生食)で溶解して腹腔内投与し、2日後にOVA 2mgと水酸化アルミニウム 100mgを1mlの生食で懸濁液としたものを腹腔内投与した。さらにその3週間後、ブースターとしてOVA 0.01mgと水酸化アルミニウム 100mgを1mlの生食で懸濁液としたものを腹腔内投与した。

2) 薬剤の準備と投与

S-1452 (1, 10 mg/kg)は1mlの生食に溶解し、vehicleとして生食を用いた。ICI-198, 615 (0.5, 5 mg/kg)は1mgあたり1Nの水酸化ナトリウム 3μlで湿らせた後、最終的に1%溶液となるようにPEG 400を加え、生食で希釈したものを用いた。またvehicleは上記溶媒を用いた。E-6123 (1, 10 μg/kg)はethanolに溶解後、生食で0.1%に調節した。vehicleとして0.1% ethanolを用いた。それぞれの薬剤およびvehicleは、OVA暴露の1時間前と11時間後に腹腔内投与した。対照群(control群)として、能動感作モルモットに各受容体拮抗薬のvehicleを腹腔内投与して生食を吸入した群をnegative control群、能動感作モルモットに各受容体拮抗薬のvehicleを腹腔内投与してOVAを吸入した群をpositive control群とした。

3) OVA 暴露

最後の感作から3週間後、ホール・ボディー・ダブル・チャンバー・プレチスモグラフィ(product NON-INVASIVE ANALYZER SHARON CT06069, BUXCO Electronics Inc., USA)を用いて特異的気道抵抗(specific airway resistance; sRaw)を連続的に測定した。sRawが5分間安定していることを確認した後、De Vilbiss 640ネブライザー(De Vilbiss Health Care, Inc., USA)を14.0 l/minの圧縮空気(ミニボン 54 B-588, オリジン医科工業(株), 東京)で作動させて(out put 57 μl/min), OVA (10 mg/ml)もしくは生食を90秒間吸入した。抗原吸入後15分間sRawを測定し、即時型気道反応(immediate airway response; IAR)が惹起されることを確認した。

4) 抗原誘発BHRの測定

抗原吸入の24時間後に、pentobarbital (75 mg/kg)

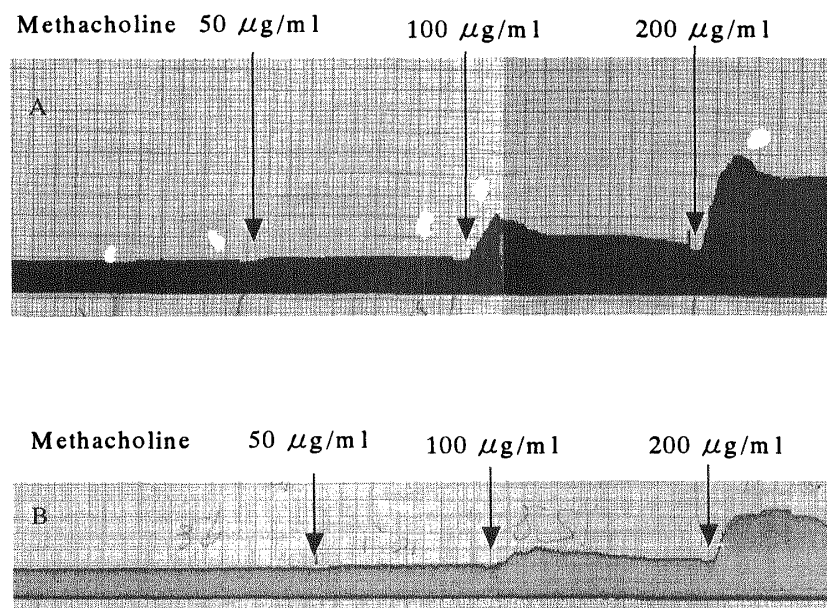


Fig. 1. Methacholine-induced increase in Pao 24 hour after OVA (A) or saline (B) challenge in actively sensitized guinea pigs.

の腹腔内投与にて麻酔し、仰臥位にて胸骨上縁より一横指頭側で気管切開を行って気管カニューレ（ポリエチレン製、外径 2.5 mm、内径 2.1 mm）を装着し、小動物用従量式レスピレーター（Model-1680, Harvard Co, Inc, South Natic, USA, 1 回換気量 10 ml/kg, 分時換気回数 60/min）を用いて陽圧換気を行った。連続的に気管カニューレの側圧（pressure at the airway opening; Pao, cmH₂O）を差圧トランスデューサー（TP-603 T, 日本光電, 東京）を用いて測定し、気管支収縮の指標とした。Pao は気管支収縮反応を中枢側から末梢側までの総和として反映する指標である²⁷⁾。1 回換気量の 2 倍の深吸気を行い、Pao に変化のないことを確認した後、南ら²⁸⁾が開発した小動物用定量的吸入負荷装置（out put 15.2 µl/min）を用いて、5 分毎に 20 秒間の methacholine (50, 100, 200 µg/ml) 吸入を行い、連続的に Pao の変化を測定した (Fig. 1)。

5) BAL 細胞成分の解析

抗原誘発 BHR 測定終了直後に、気管カニューレを通して生食 10 ml を注入し、直後に回収した。この操作を 2 回行い、合わせた回収液を BAL 液とした。BAL 液は、1500 rpm (800 × g) (REFRIGERATED CENTRIFUGE RL-131, TOMY, 東京) にて 5 分間遠心した後、沈査に生食を加えて 10 ml とし、よく混和した。BAL 液総細胞数は、この細胞浮遊液 100 µl を同量のチュルク染色液に混じて、バーカーチュルク型計算板

を用いて算定した。また細胞比率は、細胞浮遊液 100 µl を cytospin II (Shandon, Inc., Pittsburgh, England) を用いて 800 rpm (70 × g) で 8 分間遠心して塗抹標本を作成し、Wright-Giemsa 染色を行い、光学顕微鏡で気道上皮を除く細胞を 300 個観察して算定した。

6) 統計学的解析

結果は全て平均 ± 標準偏差 (mean ± SD) で表した。各濃度のメサコリン吸入後の Pao の増加率および BAL 液中の総細胞数と細胞比率の差の検定には、positive control 群、negative control 群および薬剤投与群のそれぞれ独立する 2 群を比較する目的で、Mann-Whitney's U test を用いた。メサコリン吸入後の Pao の増加率の経時的変化に関する差の検定には、repeated ANOVA を用いた。p < 0.05 を有意差ありと判定した。

結 果

1. IAR

Table 1 に、抗原吸入後の sRaw のピーク値を示した。

各薬剤の negative control 群間（基礎的 BHR）あるいは positive control 群（抗原誘発 BHR）に有意差を認めなかった。さらに、いずれの positive control 群もそ

Table 1 Effects of selective receptor antagonists for lipid mediators on antigen-induced bronchoconstriction and bronchial hyperresponsiveness in actively sensitized guinea pigs

Drug	Group	IAR ¹⁾		Antigen-induced bronchial hyperresponsiveness ²⁾			
		sRaw (cmH ₂ O · s)	p value #	Methacholine (μg/ml)			p value #
				50	100	200	
S-1452	Negative control	1.1 ± 0.0	< 0.001	9.3 ± 13.3 *	40.7 ± 36.0	128.4 ± 77.5 *	0.015
	Positive control	18.7 ± 7.0		37.4 ± 46.0	123.5 ± 116.1	289.3 ± 131.0	
	S-1452 1 mg/kg	11.9 ± 8.1	0.010	17.9 ± 26.2	48.1 ± 33.5	100.6 ± 30.7 *	< 0.001
	S-1452 10 mg/kg	7.9 ± 4.1 *	0.001	4.4 ± 4.1 *	17.3 ± 13.7 *	76.3 ± 43.1 **	< 0.001
ICI-198, 615	Negative control	1.1 ± 0.0	< 0.001	17.9 ± 13.4	39.6 ± 32.8 *	162.1 ± 111.3 *	0.034
	Positive control	18.3 ± 9.4		22.4 ± 17.1	116.5 ± 80.5	338.8 ± 193.5	
	ICI-198, 615 0.5 mg/kg	11.0 ± 7.8 *	0.050	18.0 ± 9.3	54.6 ± 34.2	167.6 ± 139.1	0.077
	ICI-198, 615 5.0 mg/kg	4.4 ± 1.0 **	< 0.001	7.4 ± 5.3	26.7 ± 16.1 *	91.6 ± 69.0 **	0.002
E-6123	Negative control	1.1 ± 0.0	< 0.001	7.5 ± 7.8 **	44.1 ± 31.8 *	146.0 ± 89.9 *	0.006
	Positive control	20.1 ± 6.5		27.9 ± 18.1	124.7 ± 64.2	379.3 ± 203.1	
	E-6123 1 μg/kg	17.9 ± 10.0	0.195	19.8 ± 12.8	68.2 ± 36.5	213.6 ± 87.2	0.042
	E-6123 10 μg/kg	14.4 ± 6.3	0.023	7.7 ± 5.7	48.3 ± 26.4 *	176.2 ± 71.9 *	0.016

1) Presented by peak value of sRaw following OVA challenge.

2) Percentage changes of Pao are shown as mean ± S.D.

* : p < 0.05, ** : p < 0.01 compared with positive control by Mann-Whitney's U test.

: p value compared with positive control by repeated ANOVA.

7 animals were used in each group.

それぞれの negative control 群に比べて sRaw の有意な上昇, すなわち IAR を同程度に認めた。

S-1452, ICI-198, 615, E-6123 は, それぞれ IAR を用量依存的に有意に抑制した。

2. 抗原誘発 BHR

Table 1 に, 抗原誘発 BHR に対する各受容体拮抗薬の影響を, 基礎値からの Pao の増加率 (%) として示した。

各薬剤の positive control 群 (抗原誘発 BHR) は, それぞれの negative control 群 (基礎的 BHR) に比べて BHR の有意な亢進, すなわち抗原誘発 BHR を認めた。

S-1452, ICI-198, 615, E-6123 は, それぞれ抗原誘発 BHR を用量依存的に有意に抑制した。

3. BAL 細胞成分

Table 2 に, BAL 細胞成分に対する各受容体拮抗薬の効果を示した。BAL 液の回収率は 70.0~82.0% であった。

negative control 群間あるいは positive control 群間に有意差を認めなかった。また, いずれの positive control 群も対応する negative control 群に比べて, TCC と好酸球比率の有意な増加を認めた。細胞数では, マ

クロファージ数, 好酸球数およびリンパ球数の有意な増加を認めた。

S-1452 は, positive control 群の TCC に対して 1 mg/kg で有意な変化を与えず, 10 mg/kg で有意に抑制した。一方, 細胞比率には影響を与えなかった。細胞数では, S-1452 10 mg/kg がマクロファージ数, 好酸球数およびリンパ球数を有意に抑制した。

ICI-198, 615 は, positive control 群と比較して, TCC を 0.5 mg/kg および 5.0 mg/kg で有意に抑制した。一方, 細胞比率では, 5.0 mg/kg で有意に好酸球比率を抑制した。細胞数では, 0.5 mg/kg および 5.0 mg/kg で好酸球数とリンパ球数を有意に抑制した。

E-6123 は, positive control 群と比較して, 1 μg/kg, 10 μg/kg とともに, 総細胞数, 細胞比率あるいは細胞数に有意な影響を与えなかった。

考 察

モルモット喘息モデルの抗原誘発 BHR と好酸球性気道炎症における脂質メディエーターの役割を検討す

Table 2 Effects of selective receptor antagonists for lipid mediators on antigen-induced changes in bronchoalveolar lavage cell components in actively sensitized guinea pigs

Drug	Group	TCC ($\times 10^6/\text{ml}$)	Cell differentiation							
			Percentage (%)				Number ($\times 10^3/\text{ml}$)			
			M ϕ	Eo	Neu	Lym	M ϕ	Eo	Neu	Lym
S-1452	Negative control	28 $\pm$ 1.4 **	71.4 $\pm$ 11.4 *	19.4 $\pm$ 10.0 *	3.4 $\pm$ 3.4	5.9 $\pm$ 1.5	201.5 $\pm$ 99.0 **	56.1 $\pm$ 53.2 **	8.8 $\pm$ 10.1	16.7 $\pm$ 10.2 **
	Positive control	12.0 $\pm$ 6.6	48.2 $\pm$ 20.0	44.7 $\pm$ 20.0	1.6 $\pm$ 1.7	5.4 $\pm$ 2.7	556.7 $\pm$ 225.4	560.6 $\pm$ 370.7	22.6 $\pm$ 31.8	64.4 $\pm$ 30.2
	S-1452 1 mg/kg	11.8 $\pm$ 5.5	49.9 $\pm$ 23.6	40.9 $\pm$ 23.6	2.7 $\pm$ 1.6	3.3 $\pm$ 3.1	588.5 $\pm$ 327.9	500.1 $\pm$ 405.1	34.7 $\pm$ 25.0	36.6 $\pm$ 35.6
	S-1452 10 mg/kg	5.2 $\pm$ 2.3 **	43.7 $\pm$ 11.5	48.5 $\pm$ 12.5	3.4 $\pm$ 3.3	4.4 $\pm$ 2.4	213.4 $\pm$ 57.3 **	268.2 $\pm$ 183.3 *	21.0 $\pm$ 28.0	20.2 $\pm$ 13.0 **
ICI-198, 615	Negative control	3.1 $\pm$ 1.2 *	75.4 $\pm$ 11.8 **	16.1 $\pm$ 12.9 **	3.3 $\pm$ 4.0	5.1 $\pm$ 2.0	253.9 $\pm$ 109.2 **	45.8 $\pm$ 41.4 **	9.3 $\pm$ 7.9	16.1 $\pm$ 9.0 **
	Positive control	11.8 $\pm$ 4.4	45.7 $\pm$ 10.0	46.7 $\pm$ 9.3	3.3 $\pm$ 2.7	4.2 $\pm$ 1.4	528.2 $\pm$ 203.9	565.9 $\pm$ 281.7	34.9 $\pm$ 31.0	46.8 $\pm$ 16.6
	ICI-198, 615 0.5 mg/kg	5.7 $\pm$ 4.6 *	56.8 $\pm$ 18.2	31.1 $\pm$ 16.3	4.3 $\pm$ 4.1	3.5 $\pm$ 2.0	289.7 $\pm$ 235.6	175.9 $\pm$ 175.0 **	24.6 $\pm$ 28.2	17.0 $\pm$ 14.7 **
	ICI-198, 615 5.0 mg/kg	5.3 $\pm$ 4.4 *	67.3 $\pm$ 14.0	24.3 $\pm$ 11.8 **	4.0 $\pm$ 3.0	4.3 $\pm$ 4.0	341.1 $\pm$ 280.7	152.4 $\pm$ 182.0 **	15.8 $\pm$ 25.4	17.4 $\pm$ 23.6 *
E-6123	Negative control	2.9 $\pm$ 1.5 **	84.3 $\pm$ 8.2 **	16.0 $\pm$ 6.3 **	2.4 $\pm$ 2.1	6.0 $\pm$ 5.9	240.5 $\pm$ 115.0 *	49.7 $\pm$ 41.8 **	9.1 $\pm$ 10.5	16.8 $\pm$ 23.0 *
	Positive control	12.0 $\pm$ 3.4	48.1 $\pm$ 16.7	44.0 $\pm$ 16.9	1.5 $\pm$ 1.5	6.4 $\pm$ 3.8	588.4 $\pm$ 282.5	523.4 $\pm$ 232.8	15.8 $\pm$ 15.8	68.1 $\pm$ 29.2
	E-6123 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10.3 $\pm$ 4.5	49.1 $\pm$ 4.5	40.6 $\pm$ 7.1	1.1 $\pm$ 1.1	9.2 $\pm$ 7.3	497.9 $\pm$ 210.8	437.3 $\pm$ 250.8	11.0 $\pm$ 11.5	81.7 $\pm$ 60.6
	E-6123 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10.4 $\pm$ 3.9	49.9 $\pm$ 10.4	43.1 $\pm$ 8.3	0.8 $\pm$ 1.0	6.1 $\pm$ 5.2	537.9 $\pm$ 253.2	429.0 $\pm$ 123.8	7.1 $\pm$ 9.0	67.3 $\pm$ 78.9

Data are shown as mean $\pm$ S.D.* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ compared with positive control by Mann-Whitney's U test.
7 animals were used in each group.

るために、能動感作モルモットに抗原を吸入し、24時間後の抗原誘発 BHR と気道炎症細胞浸潤に対する TXA₂ 受容体拮抗薬 (S-1452), cLT 受容体拮抗薬 (ICI-198, 615) および PAF 受容体拮抗薬 (E-6123) の影響を検討した。気道への好酸球浸潤は抗原吸入後 24 時間後にピークとなって 8 日間持続し、気道過敏性亢進は抗原吸入 4 時間後に認められて 8 日間持続することが示されている²⁹⁾。したがって本研究では、抗原誘発 BHR と好酸球性気道炎症を抗原吸入 24 時間後に評価した。また、本研究では、能動感作の成立を確認するために、抗 OVA IgE 抗体、抗 OVA IgG 抗体、受身皮膚アナフィラキシー反応などの直接的手法を用いずに、IAR を測定する間接的手法を用いた。その結果、それぞれの選択的受容体拮抗薬に関する positive control 群の IAR には差を認めず、いずれもそれぞれの negative control 群に比べて明らかに Raw の増加を認めた。したがって、感作成立に再現性ありと判断した。本研究では、生食吸入を行った negative control 群に比べて、OVA を吸入した positive control 群では抗原吸入 24 時間後に BHR の有意な亢進 (抗原誘発 BHR) と BAL 液中の総細胞数の増加、とくに好酸球数とリンパ球数の増加 (抗原誘発好酸球性気道炎症) を認めた。この抗原誘発 BHR に対して、3 薬剤とも用量依存性に有意な抑制を示した。BAL 細胞成分の検討では、S-1452 は総細胞数の増加を非特異的に抑制したが、細胞分画に影響を与えなかった。その結果、S-1452 は総細胞数増加の抑制を介して好酸球数、リンパ球数およびマクロファージ数を有意に抑制した。ICI-198, 615 は、総細胞数の増加と好酸球比率の増加の両者を用量依存性に有意に抑制した。E-6123 は、総細胞数、細胞比率、細胞数のいずれにも影響を与えなかった。

喘息患者の基礎的 BHR における脂質メディエーターの関与について、本邦では TXA₂ 受容体拮抗薬が喘息患者の基礎的 BHR を有意に改善したという報告^{4)~7)}は多いが、欧米では改善効果は認めるものの統計学的に有意差がなかったと報告⁸⁾⁹⁾されており、喘息病態の人種差が存在する可能性がある。cLT と PAF については、cLT 受容体拮抗薬である pranlukast が喘息患者の基礎的 BHR を改善したという 2 報¹⁰⁾¹³⁾と、PAF 受容体拮抗薬である Y-24180 が喘息患者の基礎的 BHR を改善したという 1 報¹²⁾があるのみであり、詳細は不明である。

抗原誘発 BHR における脂質メディエーターの関与については、TXA₂ に関する報告はない。cLT につい

ては、pranlukast がアトピー型喘息患者に抗原暴露した 24 時間後の BHR を改善したという報告¹³⁾がある。PAF については、PAF 受容体拮抗薬である WEB-2086 がアトピー型喘息患者の抗原誘発 BHR に影響を与えなかったと報告³⁰⁾されている。

以上のように、喘息患者の基礎的 BHR と抗原誘発 BHR における脂質メディエーターの関与は明確ではない。喘息は、病態間および患者間で関与するメディエーターが不均一であることが明らかとなりつつある。例えば、ステロイド薬は最も有効な喘息治療薬であるが、多くの患者には極めて有効であるにもかかわらず、一部の患者には効かないこと、すなわちステロイド抵抗性喘息患者の存在が知られている³¹⁾。また、ヒスタミン H₁-拮抗薬はアルコール誘発喘息には著効を示すが³²⁾、抗原誘発即時型喘息反応や遅発型喘息反応には僅かしか効かない³³⁾。さらに、喘息の重症度の差やアトピー型と非アトピー型の差が病態を複雑にしている可能性もある。したがって、喘息患者の基礎的 BHR や抗原誘発 BHR における脂質メディエーターの役割を明らかにするには、より厳密な症例の選択と的確な臨床プロトコルが必要であり、今後の成績の集積が待たれる。

近年、喘息患者の気道炎症細胞浸潤における脂質メディエーターの関与に関する成績が集積されつつある。喘息患者の生検気管支組織での検討では、TXA₂ 受容体拮抗薬⁷⁾や cLT 受容体拮抗薬³⁴⁾が、活性化好酸球の指標である EG 2 陽性細胞数を減少させたという報告がある。しかし、PAF 拮抗薬の効果に関する報告はみられない。喘息患者の BAL 細胞所見に関する成績では、アトピー型喘息患者に cLT 受容体拮抗薬である zafirlukast を 1 週間経口投与したところ、BAL 液中のリンパ球数が有意に減少し、好酸球数は減少傾向を認めたものの統計学的に有意差はなかったという報告¹⁸⁾と、5-リポキシゲナーゼ阻害薬である zileuton が BAL 液中の好酸球数を抑制したという報告があり³⁵⁾、喘息の好酸球性気道炎症における cLT の重要性が示唆されている。しかし、喘息患者の BAL 細胞成分に対する TXA₂ 拮抗薬や PAF 拮抗薬の影響に関する報告はみられない。以上のように、気道への好酸球を主体とする炎症細胞浸潤に対する脂質メディエーターの関与は一部明らかとなりつつあるが、前述したように喘息は均一な疾患でないことも加わって、十分に解明されているとは言えない。今後の詳細な検討成績を待たなければならないが、気管支生検も BAL も

Table 3 Effects of selective receptor antagonists for lipid mediators on antigen-induced bronchoconstriction and bronchial hyperresponsiveness in naive guinea pigs

Drug	Group	IAR ¹⁾		Antigen-induced bronchial hyperresponsiveness ²⁾			
		sRaw (cmH ₂ O · s)	p value #	Methacholine (μg/ml)			p value #
				50	100	200	
S-1452	Vehicle	1.1 ± 0.0	N.S.	5.7 ± 5.7	37.8 ± 38.4	99.1 ± 61.4	N.S.
	S-1452 1 mg/kg	1.1 ± 0.0	N.S.	5.0 ± 1.7	34.2 ± 31.5	114.5 ± 59.7	N.S.
	S-1452 10 mg/kg	1.1 ± 0.0	N.S.	4.4 ± 2.2	32.8 ± 38.4	121.5 ± 66.5	N.S.
ICI-198, 615	Vehicle	1.1 ± 0.0	N.S.	5.1 ± 5.5	33.3 ± 29.6	127.8 ± 71.9	N.S.
	ICI-198, 615 0.5 mg/kg	1.1 ± 0.0	N.S.	2.7 ± 2.0	25.6 ± 24.8	140.6 ± 118.6	N.S.
	ICI-198, 615 5.0 mg/kg	1.1 ± 0.0	N.S.	8.8 ± 14.3	53.1 ± 57.8	158.8 ± 118.1	N.S.
E-6123	Vehicle	1.1 ± 0.0	N.S.	6.2 ± 6.8	29.2 ± 31.3	143.2 ± 85.2	N.S.
	E-6123 1 μg/kg	1.1 ± 0.0	N.S.	5.7 ± 5.0	24.7 ± 34.0	129.8 ± 61.0	N.S.
	E-6123 10 μg/kg	1.1 ± 0.0	N.S.	6.4 ± 9.5	30.1 ± 37.9	89.5 ± 65.4	N.S.

1) Presented by peak value of sRaw following OVA challenge.

2) Percentage changes of Pao are shown as mean ± S.D.

N.S. : not significant

7 animals were used in each group.

侵襲的検査であるため、喘息患者での検討は容易ではない。

喘息患者での詳細な検討が困難な場合、動物実験で代用することも有用であり重要となる。喘息の動物モデルとしては、モルモットに抗原の腹腔内投与や吸入投与による能動感作を行った後に、抗原を吸入暴露させて IAR を惹起し、抗原誘発 BHR を作成して、抗原誘発 BHR や抗原誘発好酸球性気道炎症に関する検討を行うのが一般的である。

喘息の動物モデルでは、TXA₂^{19) - 21)}、cLT^{22) - 24)}、PAF^{23) - 26) 36) 37)}のいずれの受容体拮抗薬も抗原誘発 BHR を抑制することが示されている。また、BAL による抗原誘発好酸球性気道炎症に関する報告は、TXA₂ については全て本邦からの報告であるが、その受容体拮抗薬が、総細胞数や炎症細胞分画に影響を与えた¹⁸⁾という報告と与えなかった^{19) 24) 38)}という報告がある。また、cLT 受容体拮抗薬についても、pranlukast が総細胞数や炎症細胞浸潤を抑制したという報告^{39) 40)}と抑制しなかったという報告²⁴⁾の両方がある。さらに、PAF 受容体拮抗薬である SM-10661 が総細胞数と好酸球浸潤を抑制したという報告がある⁴¹⁾のに対し、Y-24180 は総細胞数に影響せずに好酸球分画のみを抑制したという報告²⁴⁾や CS-19³⁶⁾、CV-6209⁴²⁾、SDZ 64-412^{25) 35)}が、全く影響しなかったという報告があ

る^{26) 35) 43)}。以上のように動物実験では、抗原誘発 BHR に TXA₂、cLT、PAF のいずれもが関与すると考えられる。しかし、気道への抗原誘発炎症細胞浸潤に関する BAL による検討では、実に様々な結果が報告されている。動物実験で結果が一致しない最も大きな原因の一つとして、使用薬剤の違いも考慮すべきかもしれないが、実験系の違いが最も大きく影響を与えているのではないかと考えられる。つまり、受動感作や能動感作、吸入投与による感作や腹腔内投与による感作、感作に OVA を用いたりアスカリスを用いたり、アジュバントとして水酸化アルミニウムを用いたりシリカを用いたり、感作期間も様々で、抗原暴露の種類も量も時間も様々、さらに BAL については施行時間も抗原暴露後 1 時間から 48 時間までと様々といったことである。そこで、最も広く普遍的に使用されている喘息の動物モデルを用いて、主要な 3 つの脂質メディエーターの役割を同時に検討して直接比較し、それぞれの脂質メディエーターの役割を質的・量的に明らかにすることを目的として本研究を実施した。

S-1452 は、選択的な TXA₂ 受容体拮抗薬であり、モルモットでは、1 から 10 mg/kg の経口投与が抗原誘発 BHR を抑制し¹⁹⁾、0.01 から 0.1 mg/kg の静脈内投与がインターロイキン 8 吸入による BHR を抑制する⁴²⁾ことが示されているので、本研究での投与量設定

は、腹腔内投与でも十分有効量と考えられる 1 mg/kg と 10 mg/kg とした。ICI-198, 615 は、選択的 cLT 受容体拮抗薬であり、能動感作モルモットにおいて、腹腔内投与では 3 μ mol/kg で BAL 液中の好酸球浸潤を抑制し、経口投与では 3 μ mol/kg で LTD₄ による気管支収縮反応を抑制することが、これに伴う好酸球浸潤は抑制しないことが示されている⁴⁴⁾。静脈内投与では、0.03 から 0.3 mg/kg でアセトアルデヒド吸入による BHR を抑制する⁴⁵⁾。以上より、本研究では、腹腔内投与での有効量と考えられる 0.5 mg/kg と 5.0 mg/kg を用いた。E-6123 は、選択的 PAF 受容体拮抗薬である。モルモットにおいて、静脈内投与では 1 μ g/kg でプロプラノロール誘発気道収縮を抑制し⁴⁶⁾、経口投与では PAF 誘発気道収縮の ED₅₀ 値は 1.3 μ g/kg⁴⁷⁾と報告されている。以上より、本研究では腹腔内投与での十分な有効量と考えられる 1 μ g/kg と 10 μ g/kg を用いた。

今回の研究で、本モルモット喘息モデルにおける抗原誘発 BHR を S-1452, ICI-198, 615 および E-6123 が有意に抑制したことより、抗原誘発 BHR に TXA₂, cLT および PAF が関与していることが確認された。この結果は既に述べたこれまでの報告と一致している。また、我々は薬剤の直接作用を評価するために、非感作モルモットを用いて同様の実験を行い、気道反応性と BALF 細胞成分に対する S-1452, ICI-198, 615 および E-6123 の影響を検討した。結果は Table 3, 4 に示したように、全く影響を与えなかった。以上より、TXA₂, cLT および PAF は base line の気道反応性に関与していないと考えられる。しかしながら、それぞれの negative control に比較して、S-1452 10 mg/kg および ICI-198, 615 5.0 mg/kg 投与群では methacholine 濃度 50, 100, 200 μ g/ml とともに統計学的に有意差はないものの、気道反応性の低下傾向を認めた。抗原暴露により、TXA₂ や cLT などの気道収縮性メディエーターばかりではなく、PGI₂ や PGE₂ などの気道拡張性メディエーターも同時に合成・遊離しているため、収縮性メディエーターの阻害が拡張性メディエーターの効果を顕著にした可能性が示唆されるが、その詳細は不明である。

一方、BAL 細胞成分の検討では、S-1452 が総細胞数を抑制し、細胞分画に影響を与えなかったことより、TXA₂ は抗原暴露後の気道への炎症細胞浸潤に非特異的に関与していると考えられ、アレルギー反応による気道の血管透過性亢進に関与していることが示唆され

Table 4 Effects of selective receptor antagonists for lipid mediators on antigen-induced changes in bronchoalveolar lavage cell components in naive guinea pigs

Drug	Group	TCC (× 10 ⁶ /ml)	Cell differentiation							
			Percentage (%)				Number (× 10 ³ /ml)			
			Mφ	Eo	Neu	Lym	Mφ	Eo	Neu	Lym
S-1452	Vehicle	2.1 ± 1.3	81.3 ± 4.1	7.7 ± 2.1	2.1 ± 2.3	8.9 ± 3.3	175.3 ± 115.4	15.8 ± 10.0	4.0 ± 6.9	16.3 ± 10.9
	S-1452 1 mg/kg	2.5 ± 1.7	84.1 ± 8.8	8.9 ± 8.2	0.7 ± 1.0	6.3 ± 2.0	208.5 ± 145.9	20.8 ± 24.6	2.1 ± 4.3	14.4 ± 8.7
	S-1452 10 mg/kg	2.1 ± 1.5	83.8 ± 12.0	7.1 ± 7.9	1.0 ± 1.4	7.9 ± 7.0	181.3 ± 127.1	11.6 ± 19.6	2.2 ± 4.6	14.7 ± 16.5
ICI-198, 615	Vehicle	2.6 ± 1.5	72.4 ± 7.8	10.7 ± 5.1	2.1 ± 2.2	14.8 ± 8.5	197.5 ± 122.5	30.2 ± 28.5	4.9 ± 5.7	30.3 ± 7.7
	ICI-198, 615 0.5 mg/kg	3.1 ± 1.5	79.7 ± 9.2	10.0 ± 5.8	2.0 ± 4.4	8.3 ± 3.8	261.8 ± 146.6	27.6 ± 16.7	1.7 ± 2.7	23.2 ± 13.5
	ICI-198, 615 5.0 mg/kg	3.0 ± 1.4	81.4 ± 7.8	9.3 ± 4.2	1.7 ± 1.5	7.6 ± 5.8	247.3 ± 121.3	30.0 ± 25.4	4.5 ± 4.1	19.6 ± 19.4
E-6123	Vehicle	2.2 ± 0.9	85.0 ± 3.9	8.0 ± 3.9	2.5 ± 2.5	4.5 ± 3.1	204.7 ± 105.8	16.3 ± 8.2	5.2 ± 5.4	12.6 ± 17.0
	E-6123 1 μg/kg	1.8 ± 0.5	85.1 ± 5.4	7.9 ± 4.2	2.7 ± 3.3	4.3 ± 3.1	149.9 ± 40.3	14.9 ± 11.6	4.5 ± 5.8	7.8 ± 6.0
	E-6123 10 μg/kg	2.0 ± 0.7	88.3 ± 4.3	6.3 ± 3.3	1.6 ± 1.7	3.9 ± 1.6	179.2 ± 64.8	12.5 ± 6.5	2.7 ± 3.1	8.4 ± 6.9

Data are shown as mean $\pm$ S.D.

7 animals were used in each group.

た。この結果は、これまでの報告¹⁸⁾¹⁹⁾²⁴⁾³⁸⁾と好酸球比率に影響を与えないという点では一致しているが、総細胞数を抑制した結果、好酸球数、リンパ球数、マクロファージ数が有意に抑制されたという点で異なっている。しかし、これまでの報告はいずれも抗原暴露30分から7時間後にBALを施行している。すなわち、Takamiらの報告⁴⁹⁾では、TXA₂合成酵素阻害薬であるDP-1904が、抗原暴露7時間後のBAL液好酸球数を抑制する傾向を認めていること、Naritaらの報告²¹⁾では、TXA₂受容体拮抗薬であるBay-u 3405が能動感作モルモットの抗原暴露後の鼻粘膜への好酸球浸潤を抑制していること、さらにInoueらの報告¹⁸⁾では、抗原暴露4時間後のBAL液炎症細胞に有意な変化を認めなかったが、6時間後のBAL液総細胞数、好酸球数、リンパ球数の有意な減少を認めていることより、TXA₂が気道への好酸球浸潤に関与している可能性は十分に考えられ、本研究の結果との違いは抗原暴露後の時相の差異によると考えられた。また、S-1452は抗原暴露後の肺血管傷害を抑制することによって抗原誘発BHRを抑制するという報告⁴⁹⁾もあり、TXA₂が気道の血管透過性亢進に関与している可能性は大きい。したがって、TXA₂は抗原暴露による血管透過性亢進を介して抗原誘発気道炎症細胞浸潤に関与していると考えられる。次に、ICI-198, 615は、抗原暴露によるBAL液の総細胞数増加を抑制するとともに、好酸球比率の増加も抑制した。したがって、cLTは抗原暴露後の気道への炎症細胞浸潤に非特異的に関与するとともに、好酸球浸潤に対しても特異的な役割を果たしていると考えられる。すなわちcLTは、気道の血管透過性亢進と好酸球の気道への遊走の両者に関与していることが示唆された。これらの結果は、既に述べた従来の報告²²⁾⁴⁰⁾と一致している。最後に、E-6123が抗原暴露による総細胞数増加にも細胞比率の変化にも全く影響を与えなかったことより、PAFは抗原暴露後の気道への炎症細胞浸潤に関与していないことが示唆された。この成績は、既に述べた従来の報告²⁶⁾³⁶⁾³⁷⁾⁴³⁾と一致している。

好酸球性気道炎症とBHRの因果関係に関しては十分に解明されていない。本研究において、TXA₂とcLTの受容体拮抗薬が、抗原誘発後の気道への好酸球浸潤とBHRの両者を抑制した成績は、気道の好酸球性炎症がBHRの原因であるかのように解釈できるかもしれないが、PAF拮抗薬が気道への好酸球浸潤を抑制せずに抗原暴露によるBHRを抑制したことから矛盾

する。ポリミキシンBの経気道的投与による気道への好酸球浸潤が、baselineの気道反応性やIARを変化させないことも報告されており⁵⁰⁾、気道の好酸球性炎症がBHRの直接的原因とは考えがたい。ただし、PAFは好酸球の遊走因子であるとともに、好酸球の活性化因子でもあるので、浸潤した好酸球数には影響せずに、その活性化を抑制してBHRを低下させた可能性もある。本研究では、好酸球の活性化に関しては評価しておらず、その詳細は今後の検討課題である。

結 語

1) モルモット喘息モデルにおける抗原誘発BHRと抗原誘発気道炎症細胞浸潤におけるTXA₂、cLTおよびPAFの役割を、それぞれの選択的受容体拮抗薬（それぞれS-1452, ICI-198, 615, E-6123）を用いて直接的に比較検討した。

2) S-1452, ICI-198, 615, E-6123とも抗原暴露24時間のBHRを用量依存的に有意に抑制した。

3) 抗原暴露24時間後のBAL細胞成分の検討では、S-1452は総細胞数の増加を抑制したが細胞比率の変化には影響せず、ICI-198, 615は総細胞数の増加と好酸球比率の増加の両者を抑制した。しかし、E-6123はいずれにも全く影響しなかった。したがって、TXA₂は気道の血管透過性亢進を介して炎症細胞浸潤に、cLTは血管透過性亢進と、好酸球の遊走の両者に関与しているが、PAFは炎症細胞浸潤に明らかな役割を果たしていないことが示唆された。

4) 再現性のある動物モデルを用いて、TXA₂、cLTおよびPAFそれぞれの受容体拮抗薬を用いて直接比較検討した研究は本研究が初めてであり、本研究によって抗原誘発BHRと気道炎症細胞浸潤における各々の脂質メディエーターの役割がより明確になった。

文 献

- 1) Boushey, H.A., Holtzman, M.J., Sheller, J.R. and Nadel, J.A.: Bronchial hyperreactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.* **121**, 384-413, 1980.
- 2) Bousquet, J., Chanez, P., Lacoste, J.Y., Barneon, G., Ghavanian, N., et al.: Eosinophilic inflammation in asthma. *N. Engl. J. Med.* **323**, 1033-1039, 1990.
- 3) Lewis, R.A. and Robin, J.L.: Arachidonic acid derivatives as mediators of asthma. *J. Allergy Clin.*

- Immunol.* **76**, 259–264, 1985.
- 4) Fujimura, M., Sakamoto, S., Saito, M., Miyake, Y. and Matsuda, T. : Effect of a thromboxane A₂ receptor antagonist (AA-2414) on bronchial hyperresponsiveness to methacholine in subjects with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **87**, 23–27, 1991.
 - 5) Fujimura, M., Nakatsumi, Y., Nishi, K., Kasahara, K., Matsuda, T., Kanazawa Asthma Research Group : Involvement of thromboxane A₂ in bronchial hyperresponsiveness of asthma. *Pulm. Pharmacol.* **8**, 251–257, 1995.
 - 6) Aizawa, H., Shigyo, M., Nogami, H., Hirose, T. and Hara, N. : BAY u3405, a thromboxane A₂ antagonist, reduces bronchial hyperresponsiveness in asthmatics. *Chest* **109**, 338–342, 1996.
 - 7) Hoshino, M., Sim, J., Shimizu, K., Nakayama, H. and Koya, A. : Effect of AA-2414, a thromboxane A₂ receptor antagonist, on airway inflammation in subjects with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **103**, 1054–1061, 1999.
 - 8) Gardiner, P.V., Young, C.L., Holmes, K., Hendrick, D.J. and Walters, E.H. : Lack of short-term effect of the thromboxane synthetase inhibitor UK-38, 485 on airway reactivity to methacholine in asthmatic subjects. *Eur. Respir. J.* **6**, 1027–1030, 1993.
 - 9) Stenton, S.C., Young, C.A., Harris, A., Palmer, J.B., Hendrick, D.J., et al. : The effect of GR 32191 (a thromboxane receptor antagonist) on airway responsiveness in asthma. *Pulm. Pharmacol.* **5**, 199–202, 1992.
 - 10) Fujimura, M., Sakamoto, S., Kamio, Y. and Matsuda, T. : Effect of a leukotriene antagonist, ONO-1078, on bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Respir. Med.* **87**, 133–138, 1993.
 - 11) Yoshida, S., Sakamoto, H., Ishizaki, Y., Onuma, K., Shoji, T., et al. : Efficacy of leukotriene receptor antagonist in bronchial hyperresponsiveness and hypersensitivity to analgesic in aspirin-intolerant asthma. *Clin. Exp. Allergy* **30**, 64–70, 2000.
 - 12) Hozawa, S., Haruta, Y., Ishioka, S. and Yamakido, M. : Effects of a PAF antagonist, Y-24180, on bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **152**, 1198–1202, 1995.
 - 13) Hamilton, A., Faiferman, I., Stober, P., Watson, R. M. and O'Byrne, P.M. : Pranlukast, a cysteinyl leukotriene receptor antagonist, attenuates allergen-induced early-and late-phase bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness in asthmatic subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.* **102**, 177–183, 1998.
 - 14) Taylor, I.K., Ward, P.S., O'Shaughnessy, K.M., Dollery, C.T., Black, P., et al. : Thromboxane A₂ biosynthesis in acute asthma and after antigen challenge. *Am. Rev. Respir. Dis.* **143**, 119–125, 1991.
 - 15) Chan-Yeung, M., Lam, S., Chan, H., Tse, K.S. and Salari, H. : The release of platelet-activating factor into plasma during allergen-induced bronchoconstriction. *J. Allergy Clin. Immunol.* **87**, 667–673, 1991.
 - 16) Wenzel, S.E., Trudeau, J.B., Kaminsky, D.A., Cohn, J., Martin, R.J., et al. : Effect of 5-lipoxygenase inhibition on bronchoconstriction and airway inflammation in nocturnal asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **152**, 897–905, 1995.
 - 17) Calhoun, W.J., Lavins, B.J., Minkwitz, M.C., Evans, R., Gleich, G.J., et al. : Effect of zafirlukast (Accolate) on cellular mediators of inflammation ; bronchoalveolar lavage fluid findings after segmental antigen challenge. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **157**, 1381–1389, 1998.
 - 18) 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 のモルモット遅発性喘息反応に対する効果. *アレルギー* **42**, 205–213, 1993.
 - 19) Takeda, H., Kogame, A., Tanaka, H. and Nagai, H. : Time course study for airway inflammation and responsiveness by repeated provocation of aeroantigen in guinea pigs. *Prostaglandins* **54**, 805–820, 1997.
 - 20) Nagai, H., Arimura, A., Yoshitake, K., Iwama, T., Sakurai, T., et al. : The effect of a novel thromboxane A₂ (TXA₂) receptor antagonist (S-1452) on the antigen-induced bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness in guinea pigs. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **48**, 343–349, 1993.
 - 21) Narita, S., Asakura, K. and Kataura, A. : Effects of thromboxane A₂ receptor antagonist (Bay u 3405) on nasal symptoms after antigen challenge in sensitized guinea pigs. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **109**, 161–166, 1996.
 - 22) Obata, T., Kobayashi, T., Okada, Y., Nakagawa, N., Terawaki, T., et al. : Effect of a peptide leukotriene antagonist, ONO-1078 on antigen-induced airway microvascular leakage in actively sensitized guinea pigs. *Life Sci.* **51**, 1577–1583, 1992.
 - 23) Watson, J.W., Conklyn, M. and Showell, H.J. : IgG1-mediated acute pulmonary hypersensitivity response in the guinea pig. Involvement of specific lipid mediators. *Am. Rev. Respir. Dis.* **142**,

- 1093-1098, 1990.
- 24) Kagoshima, M., Tomomatsu, N., Iwahisa, Y., Yamaguchi, S., Matsuura, M., et al. : Suppressive effects of Y-24180, a receptor antagonist to platelet activating factor (PAF), on antigen-induced asthmatic responses in guinea pigs. *Inflamm. Res.* **46**, 147-153, 1997.
 - 25) 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.
 - 26) Ishida, K., Thomson, R.J., Beattie, L.L., Wiggs, B. and Schellenberg, R.R. : Inhibition of antigen-induced airway hyperresponsiveness, but not acute hypoxia nor airway eosinophilia, by an antagonist of platelet-activating factor. *J. Immunol.* **144**, 3907-3911, 1990.
 - 27) 藤村政樹 : In vivo モルモットにおける slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) による気道反応とステロイドの抑制作用. *アレルギー* **32**, 365-357, 1983.
 - 28) 南 真司, 岡藤和博, 佐賀 努, 藤村政樹, 金森一紀, 他 : モルモットにおける定量吸入装置の開発. *日胸疾会誌* **21**, 252-258, 1983.
 - 29) Underwood, S., Foster, M., Raeburn, D., Bottoms, S. and Karlsson, J.A. : Time-course of antigen-induced airway inflammation in the guinea-pig and its relationship to airway hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* **8**, 2104-2113, 1995.
 - 30) Freitag, A., Watson, R.M., Matsos, G., Eastwood, C. and O'Byrne, P.M. : Effect of a platelet activating factor antagonist, WEB 2086, on allergen induced asthmatic responses. *Thorax* **48**, 594-598, 1993.
 - 31) Mathieu, M., Gougat, C., Jaffuel, D., Danielsen, M., Godard, P., et al. : The glucocorticoid receptor gene as a candidate for gene therapy in asthma. *Gene Ther.* **6**, 245-252, 1999.
 - 32) Myou, S., Fujimura, M., Nishi, K., Ohka, T. and Matsuda, T. : Inhibitory effect of terfenadine, a selective H₁ histamine antagonist, on alcoholic beverage-induced bronchoconstriction in asthmatic patients. *Eur. Respir. J.* **8**, 619-623, 1995.
 - 33) Eiser, N. : The effect of a beta 2-adrenergic agonist and a histamine H₁-receptor antagonist on the late asthmatic response to inhaled antigen. *Respir. Med.* **85**, 393-399, 1991.
 - 34) Nakamura, Y., Hoshino, M., Sim, J.J., Ishii, K., Hosaka, K., et al. : Effect of the leukotriene receptor antagonist pranlukast on cellular infiltration in the bronchial mucosa of patients with asthma. *Thorax* **53**, 835-841, 1998.
 - 35) Underwood, D.C., Osborn, R.R., Newsholme, S.J., Torphy, T.J. and Hay, D.W. : Persistent airway eosinophilia after leukotriene (LT) D₄ administration in the guinea pig ; modulation by the LTD₄ receptor antagonist, pranlukast, or an interleukin-5 monoclonal antibody. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **154**, 850-857, 1996.
 - 36) Havill, A.M., Van Valen, R.G. and Handley, D.A. : Prevention of non-specific airway hyperreactivity after allergen challenge in guinea-pigs by the PAF receptor antagonist SDZ 64-412. *Br. J. Pharmacol.* **99**, 396-400, 1990.
 - 37) Lin, C.H., Ko, F.N., Ishii, H., Ishikawa, T., Chen, I.S., et al. : The effect of the selective PAF antagonist CIS-19 on PAF-and antigen-induced bronchoconstriction, microvascular leakage and bronchial hyperreactivity in guinea-pigs. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **355**, 210-216, 1997.
 - 38) Matsumoto, T., Ashida, Y. and Tsukuda, R. : Pharmacological modulation of immediate and late airway response and leukocyte infiltration in the guinea pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **269**, 1236-1244, 1994.
 - 39) Narita, S., Asakura, K., Shirasaki, H. and Kataura, A. : Effects of a cysteinyl leukotriene antagonist, ONO-1078 (pranlukast), on total airway resistance after antigen challenge in sensitized guinea pigs. *Inflamm. Res.* **46**, 143-146, 1997.
 - 40) Nakagawa, N., Obata, T., Kobayashi, T., Okada, Y., Nambu, F., et al. : Effect of a peptide leukotriene receptor antagonist, ONO-1078, on guinea-pig models of asthma. *Eur. J. Pharmacol.* **235**, 211-219, 1993.
 - 41) 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.
 - 42) Fujimura, M., Myou, S., Nomura, M., Matsuda, T., Harada, A., et al. : Effect of thromboxane A₂ antagonist on bronchial hyperresponsiveness induced immediately after interleukin-8 inhalation in guinea-pigs. *Br. J. Pharmacol.* **122**, 1015-1020, 1997.
 - 43) 福田 健, 阿久津郁夫, 天下井正弘, 沼尾利郎, 本島新司, 他 : モルモット喘息モデルでの 2 相性好酸球浸潤に対する PAF 拮抗薬と Cyclosporin A の効果. *アレルギー* **40**, 141-146, 1991.
 - 44) Krell, R.D., Giles, R.E., Yee, Y.K. and Snyder, D. W. : In vivo pharmacology of ICI 198, 165 ; a novel, potent and selective peptide leukotriene an-

- tagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **243**, 557–564, 1987.
- 45) Fujimura, M., Myou, S., Amemiya, T., Tachibana, H., Kita, T., et al. : Peptide leukotrienes mediate acetaldehyde-induced bronchial hyperresponsiveness on guinea-pigs. *Clin. Exp. Allergy* **27**, 104–109, 1997.
 - 46) Fujimura, M., Tsujiura, M., Songur, N., Myou, S. and Matsuda, T. : Involvement of PAF in post-allergic propranolol-induced bronchoconstriction in guinea-pigs. *Eur. Respir. J.* **9**, 2064–2069, 1996.
 - 47) Sakuma, Y., Tsunoda, H., Shirato, M., Katayama, S., Yamatsu, I., et al. : Pharmacological effects of oral E 6123, a novel PAF antagonist, on biological change induced by PAF inhalation in guinea pigs. *Prostaglandins* **42**, 463–472, 1991.
 - 48) Takami, M. and Tsukada, W. : Effects of DP-1904, a thromboxane synthetase inhibitor, on the antigen-induced airway hyperresponsiveness and infiltration of inflammatory cells in guinea-pigs. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **59**, 407–414, 1998.
 - 49) Arimura, A., Asanuma, F., Matsumoto, Y., Kurosawa, A., Jyoyama, H., et al. : Effect of the selective thromboxane A₂ receptor antagonist, S-1452, on antigen-induced sustained bronchial hyperresponsiveness. *Eur. J. Pharmacol.* **260**, 201–209, 1994.
 - 50) Ishiura, Y., Fujimura, M., Myou, S., Amemiya, T., Nobata, K., et al. : In vivo airway eosinophil accumulation does not enhance antigen- or propranolol-induced bronchoconstriction in guinea pigs. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators* **58**, 219–230, 1999.

THE ROLE OF LIPID MEDIATORS IN BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS AND AIRWAY EOSINOPHIL ACCUMULATION INDUCED BY ANTIGEN CHALLENGE IN GUINEA PIGS

Hideki Tachibana

The 3rd Department of Internal Medicine, Kanazawa University School of Medicine

The aim of this study was elucidate the role of lipid mediators in bronchial hyperresponsiveness (BHR) and airway eosinophil accumulation 24 hours after an antigen challenge in guinea pigs. Thromboxane (TX) A₂ receptor antagonist, S-1452 (1, 10 mg/kg), cysteinyl leukotriene (cLT) receptor antagonist, ICI-198, 615 (0.5, 5 mg/kg), platelet activating factor (PAF) receptor antagonist, E-6123 (1, 10 µg/kg), and each vehicle were intraperitoneally given 1 h before and 11 h after an ovalbumin (OVA) challenge. BHR to inhaled methacholine was measured and then bronchoalveolar lavage (BAL) was performed 24 h after the OVA challenge. The three drugs significantly inhibited BHR to methacholine, dose dependently. S-1452 significantly inhibited total cell counts (TCC), ICI-198, 615 significantly reduced both TCC and eosinophil percentage, but E-6123 did not alter TCC and cell differentiation in BAL fluid. Therefore, these results clearly showed that lipid mediators were involved in antigen-induced BHR and suggested that TXA₂ and cLT may contribute to the penetration of inflammatory cells through capillary wall, still more cLT is concerned eosinophil accumulation with cell specificity. PAF dose not take part in the penetration of inflammatory cells.