

気管支喘息患者における抗原吸入誘発後の気道過敏性亢進への 気道上皮剥離の関与について

— 喀痰中 Eosinophil Cationic Protein 濃度の動きも含めて —

獨協医科大学アレルギー内科

九嶋 敦 本島新司 山井孝夫 牧野荘平

12例のダニに対し RAST 陽性の気管支喘息患者にダニ抗原誘発試験を行い、その前後で気道過敏性を評価した。12例中6例が吸入誘発48時間後に気道過敏性の亢進を示した。気道過敏性亢進を示した群と示さなかった群の IAR, LAR の FEV_{1.0} 低下率に差は認められなかったが、気道過敏性亢進群では喀痰中に気道上皮細胞の集塊 (Creola body, CrB) が IAR 時にも LAR 時にも有意に多く認められた。また気道過敏性亢進の程度と、CrB を数と大きさから半定量化した CrB score の間には有意な相関を認めた。この結果は、抗原吸入誘発後の気道過敏性亢進に気道上皮の剥離が関与していることを示唆している。喀痰中 eosinophil cationic protein (ECP) 濃度は、前、IAR, LAR で有意な変動は認められず、1回の抗原誘発刺激では喀痰中の ECP 濃度には著明な変化はもたらし得ないと考えられた。CrB は IAR 時にも多く認められることより、気道上皮剥離は吸入誘発前の気道上皮の状態に左右されていると考えられた。

Key words: bronchial hyperresponsiveness — bronchial asthma — Creola body — eosinophil cationic protein — sputum

緒 言

気道過敏性は気管支喘息ほとんど全てに認められ重症度とも関連するといわれ¹⁾²⁾であり、アトピー素因とともに喘息の重要な因子の1つである。抗原吸入誘発後に気道過敏性が亢進することは、ヒト³⁾⁴⁾においても動物⁵⁾においてもすでに報告されている。

Cartier らは気管支喘息患者に種々の抗原で吸入誘発を行い、前後で気道過敏性を測定した。彼らによれば、即時型喘息反応 (IAR) のみをおこした症例では気道過敏性にほとんど変化は認められなかったが、遅発型喘息反応 (LAR) をおこした症例には全例気道過敏性の亢進が認められ、長いものでは74日も持続した。さらに気道過敏性亢進の程度と亢進の期間は LAR の

程度に相関したとのことである⁶⁾。しかし、何が気道過敏性亢進の原因であるかはまだ不明の点が多い。

一方、気管支喘息の組織学的特徴の1つが気道上皮の剥離であることも以前より知られていた^{6)~9)}。剥離した気道上皮細胞は喀痰中に喀出されるが、喀痰中に円柱上皮細胞が集塊として認められるものを Naylor が Creola body (CrB)¹⁰⁾¹¹⁾と名づけたために現在でもそのように呼ばれている。Naylor によれば CrB は発作時に高率に認められ、さらにスライドガラス1枚上に認められる CrB の個数も多かった¹⁰⁾。磯島らによれば CrB は発作持続時のみに認められている¹²⁾。

さらに最近気道過敏性の成因に気道上皮傷害の関与が注目されている¹³⁾¹⁴⁾。第1に、気道上皮の剥離は知覚神経末端を露出させ迷走神経反射¹⁵⁾や軸索反射¹⁴⁾を介して気道過敏性を亢進させる。第2に、気道上皮の傷害は気管支平滑筋弛緩物質やアレルギーンの透過性を亢進¹⁶⁾させ気道を収縮させる方向にはたらく。第3に、平滑筋弛緩物質 (epithelium-derived relaxing factor, EpDRF) が気道上皮細胞より遊離されることが示唆されており、気道上皮の剥離は EpDRF の欠如を介して気道過敏性亢進をもたらさう¹³⁾¹⁴⁾¹⁷⁾。

これらの報告にもとづき、われわれは抗原吸入誘発

Received: May 23, 1990

Accepted: September 11, 1990

Abbreviations: Ach acetylcholine; CrB Creola body; D.f. *Dermatophagoides farinae*; ECP eosinophil cationic protein; EpDRF epithelium-derived relaxing factor; FEV_{1.0} forced expiratory volume in one second; IAR immediate asthmatic response; LAR late asthmatic response

後の気道過敏性亢進の原因の1つが気道上皮傷害によるのではないかと考え、抗原吸入誘発前後における気道過敏性の変化と、誘発後の喀痰中へのCrBの出現の関係を検討したので報告する。

また抗原吸入誘発時に気道において好酸球の活性化がおこるかを、喀痰中のeosinophil cationic protein (ECP)¹⁸⁾の動きにより検討したのでこの点も報告する。

対象および方法

1. 対象

対象は獨協医科大学アレルギー内科に通院または入院中の寛解期気管支喘息患者12例、男性7例、女性5例、年齢は19歳から52歳、平均30歳であった。全員ダニ (*D. farinae*, D.f.) に対して RAST score 2以上を示していた。Table 1に対象の年齢、性、病型、日本アレルギー学会重症度分類による重症度、D.f. に対する RAST score を示した。

2. プロトコール

まず対象症例の気道過敏性を評価するためにアセチルコリン吸入試験を行った。48時間後に誘発前の採痰を行い、ダニの抗原吸入誘発を行った。誘発後2時間までの喀痰を集めIARの喀痰、誘発後6～9時間の喀痰を集めLARの喀痰とした。喀痰は4℃に保存し6時間以内に後で述べる処理を施した。吸入誘発後48時間に再度気道過敏性評価のためのアセチルコリン吸入試験を行った。48時間後に2度目にアセチルコリン吸入試験を行ったのは、24時間後では1秒量が抗原吸入試験前の値に回復していない症例があるからである。

3. アセチルコリン吸入試験

アセチルコリン吸入試験は、アレルギー学会吸入試験標準化研究会の方法¹⁹⁾に従った。すなわち前日夜より薬剤を中止した対象に予測1秒量が80%以上であることを確認後、生理的食塩水、次いで39μg/mlより倍々濃度の塩酸アセチルコリン溶液(オビスート®、第一製薬)を2分ずつ吸入させ、吸入直後に1秒量を測定した。1秒量が前値の20%以上低下したときのアセチルコリン濃度をアセチルコリン閾値とした。

4. 抗原吸入誘発

抗原としては鳥居薬品製ダニ (D.f.) 凍結乾燥末を用いた。生理的食塩水を用い、ダニ抗原をWeight/Volumeとして1:10³, 1:3×10³, 1:10⁴, 1:10⁵, 1:10⁶

Table 1 Background factors of subjects

#	Name	Sex	Age	Type	Severity	RAST score to D.f.
1	E. K.	F	42	Atopic	Mild	3
2	Y. T.	M	27	Atopic	Mild	3
3	K. N.	F	25	Atopic	Mild	2
4	S. F.	F	52	Atopic	Mild	3
5	K. Y.	F	40	Mixed	Moderate	4
6	M. M.	M	33	Atopic	Mild	4
7	T. T.	M	37	Atopic	Mild	4
8	I. Y.	F	19	Atopic	Severe	3
9	H. T.	M	19	Atopic	Mild	4
10	Y. T.	M	23	Atopic	Mild	4
11	M. M.	M	22	Atopic	Mild	4
12	T. Y.	M	26	Atopic	Mild	2

の希釈系列を作製した。対象症例は前日夜より薬剤を中止し、朝9時より誘発試験を開始した。まず予測1秒量が80%以上であることを確認後、生理食塩水を2分間吸入させた。1秒量が低下しないことを確認後ダニの1:10⁶希釈液を2分間吸入させた。吸入10分後に1秒量を測定し、その低下が20%以下の場合1:10⁵希釈液を吸入させた。同様に1秒量の測定を行い、1秒量の低下率が20%以上になるまで順次ダニ希釈液を吸入させた。1秒量を抗原吸入後10分、20分、30分、45分、60分、90分、以下1時間毎に9時間後まで測定した。

5. Creola body の検索

気道上皮傷害の評価は喀痰中に喀出された気道上皮塊であるCrBによって行った。喀痰はシャーレ上にあけ、唾液と思われる部分を除いた。ピペットにて100μlの喀痰をスライドガラス上にとり、もう1枚のスライドガラスを重ね均等にひきのぼし、2枚のスミアを作製した。95%エタノールにて固定後、1枚をババニコロー染色、他をギムザ染色した。ババニコロー染色を施したスライド上全野にわたってCrBの存在を検索し、その大きさ、個数を記録した。CrBの半定量化をすでに報告した方法により行った²⁰⁾。すなわち、1個のCrBを形成する上皮細胞数が10～25個のものを1点、26～50個のものを2点、51～100個のものを4点、101個以上のものを8点とし、1枚のスライドガラス上に認められたCrBの全てに点を与え、総和をその症例のCrB scoreとした。

Fig. 1に抗原吸入誘発後に得られた喀痰中に認められたCrBを示す。ここに約20個のCrBが認められるが、その1個1個のCrBにつき構成する上皮細胞数

Table 2 Creola body score, eosinophils in sputa, RT-Ach 1 and RT-Ach 2 in each patient

#	Name	RT-Ach 1*	RT-Ach 2**	Creola body score			Eosinophils in sputa		
				Before	IAR	LAR	Before	IAR	LAR
1	E. K.	2500	1250	0	99	45	+++	+++	+++
2	Y. T.	1250	313	4	3	3	+++	+	+
3	K. N.	625	313	14	112	N.O.	+++	++	N.O.
4	S. F.	1250	625	0	185	N.O.	+	+	N.O.
5	K. Y.	313	156	N.O.***	N.O.	277	N.O.	N.O.	+
6	M. M.	2500	313	N.O.	6	0	N.O.	—	—
7	T. T.	625	625	0	0	0	—	—	—
8	I. Y.	625	1250	0	0	0	++	+++	+
9	H. Y.	1250	1250	1	0	1	++	+	—
10	Y. T.	625	625	0	0	0	—	—	—
11	H. M.	625	625	0	9	0	+	++	+
12	T. Y.	625	2500	0	N.O.	0	++	N.O.	+

Geometric mean 891 631

RT-Ach 1* : respiratory threshold of acetylcholine before allergen challenge.

RT-Ach 2** : respiratory threshold of acetylcholine 48 hours after allergen challenge.

N.O.*** : sputum not obtained.

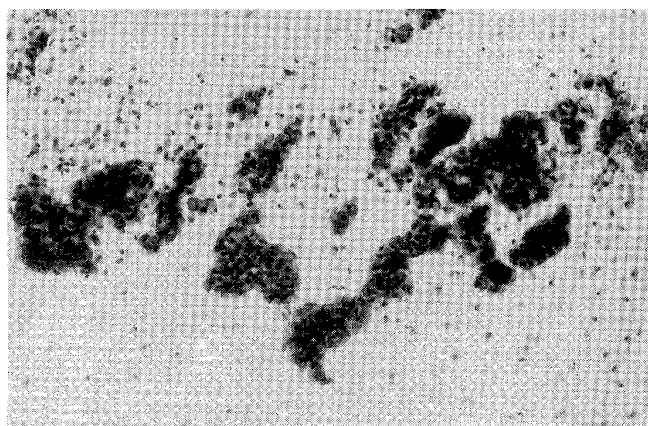


Fig. 1. Creola bodies obtained after an antigen challenge in sputum of a patient with bronchial asthma.

を数え、構成細胞数により1～8点までの点数を与えた。このようにして各々のCrBに点数を与え1枚のスライドガラス上の点数を全て加えCrB scoreとした。

喀痰中好酸球に関しては、ギムザ染色を施したスライドで400倍にて50視野観察し、0個を(—)、1～20個を(+), 21～50個を(++), 51～200個を(+++), 201個以上を(++++)とした²⁰⁾。なお、200倍にて数視野観察し、気道上皮細胞、肺胞マクロファージ、白血球のほとんど認められない喀痰は不適当なものとし破棄した。またIAR, LARの少なくとも一方で良好な喀痰の得られた症例のみを対象とした。

6. 喀痰中のECPの測定

喀痰中ECPを測定するためにまず喀痰の抽出物を作製した。作製の方法はすでに報告されている方法に従った²¹⁾²²⁾。すなわち、残りの喀痰に同量の生理的食塩水を加え、1分間vortex mixerで攪拌後4℃, 40000×g, 30分間遠心した。上澄をとり1/10量の1%硫酸プロタミン溶液を加え-70℃に保存した。

ECPの測定はファルマシア製ECP RIA Kitを用いduplicateで行った。

7. 解析

値はことわりのない限り平均±SEMで表した。平均値の差の検定はU-testまたはStudentのT-testで行い、 $p<0.05$ を有意差ありとした。

結 果

Table 2に全症例の抗原吸入誘発前後におけるアセチルコリン閾値、抗原吸入誘発前、IAR, LARにおけるCrB score、および喀痰中好酸球数を示した。

Fig. 2に抗原誘発前後におけるアセチルコリン閾値を示した。12例中6例が抗原誘発48時間後にアセチルコリン閾値の低下、すなわち気道過敏性亢進を示し、6例は示さなかった。抗原吸入誘発前後におけるアセチルコリン閾値のgeometric mean±logSEMは各々

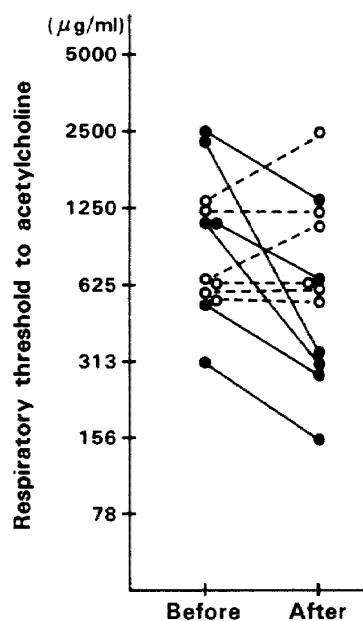


Fig. 2. Changes in respiratory threshold to acetylcholine 48 hours after antigen challenge.

891±0.08μg/ml, 631±0.10μg/mlであり、有意差は認められなかった。抗原誘発48時間後には肺機能は誘発前のレベルに還元しており、2回のアセチルコリン吸入試験時のbaseline FEV_{1.0}に有意差は認められなかった。以下抗原誘発後気道過敏性の亢進した群をA群、亢進しなかった群をB群と呼ぶことにする。

A群とB群のIARおよびLARにおけるFEV_{1.0}の低下率を比較した。IARにおけるFEV_{1.0}の低下率は、A群およびB群でそれぞれ45.1±6.7%, 39.9±7.5%であり両群間に差は認められなかった。LARにおけるFEV_{1.0}の低下率は、A群およびB群でそれぞれ31.5±4.9%, 35.7±10.4%であり、ここでも有意差は認められなかった。

Fig. 3に抗原誘発後に得られた喀痰のCrB scoreを示した。IARにおけるscoreとLARにおけるscoreの総和を示している。CrB scoreはA群では122±43 (n=6), B群では1.7±1.5 (n=6)であり、両群間に有意差を認めた($p<0.005$ U-test)。なお吸入前のCrB scoreは、14が1例いる他は全て0または10未満であり、A群B群間に有意差は認められなかった。

Fig. 4に抗原誘発後の喀痰中のCrB scoreを、IARとLARに分けて示した。IARにおいてはA群81±35 (n=5), B群1.8±1.8 (n=5), LARにおいてはA群81±66 (n=4), B群0.2±0.2 (n=6)であり、IARにおいてもLARにおいてもA群、B群間に有意差を

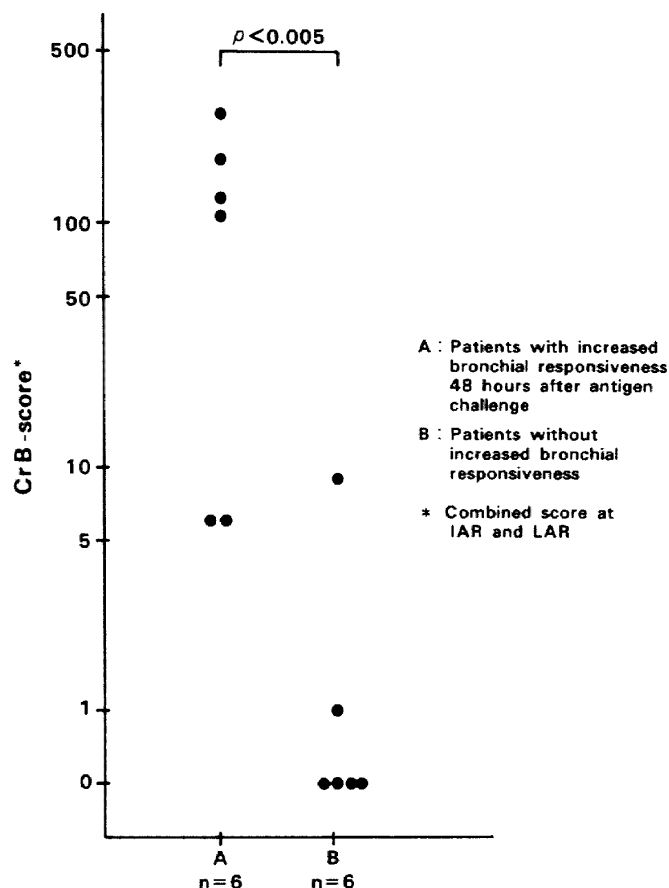


Fig. 3. Creola body score in patients with and without increased bronchial responsiveness 48 hours after antigen challenge.

認めた ($p<0.05$ U-test)。

Fig. 5に、抗原誘発前後でのアセチルコリン閾値の比とCrB scoreの関係を示した。縦軸にアセチルコリン閾値の誘発後/誘発前を示した。両者間には $r=-0.56$ ($p<0.05$)の有意な逆相関が認められ、CrBが多く出現したものほど気道過敏性が亢進することが判明した。

A群とB群の間に喀痰中好酸球数における差は認められなかった。また抗原誘発前、IAR、LARにおける喀痰中好酸球数にも有意な変化は認められなかった。

Fig. 6に喀痰中ECP濃度の変化を示した。抽出物を作製しえた喀痰中ECP濃度のgeometric mean±logSEMは抗原吸入前、IAR時、LAR時においてそれぞれ619±0.12ng/ml (n=10), 536±0.15ng/ml (n=9), 665±0.09ng/ml (n=8)であり、3者の間に有意差は認められなかった。A群における吸入前、IAR時、LAR時の喀痰中ECP濃度のgeometric mean±logSEMはそれぞれ、968±0.15ng/ml (n=4), 445±0.14

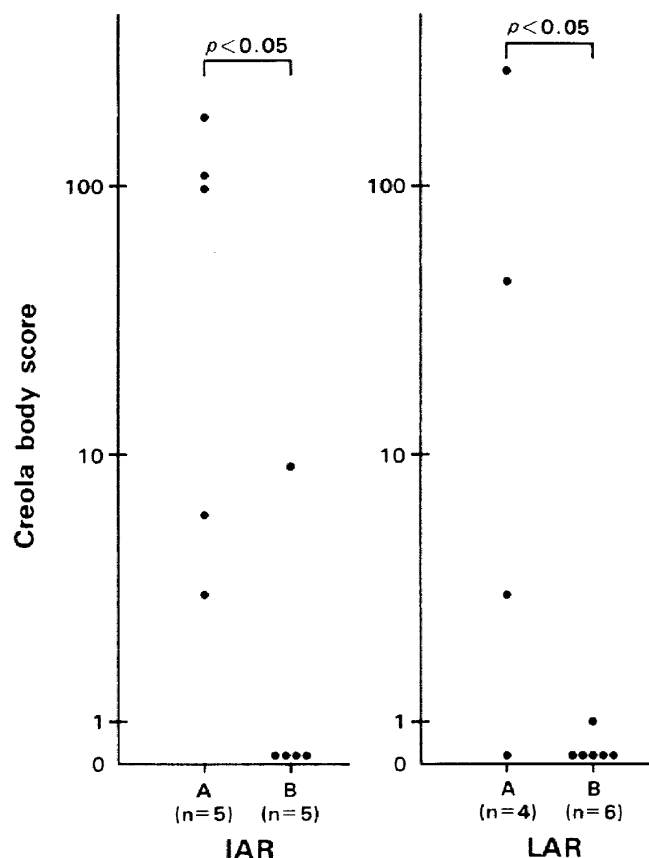


Fig. 4. Creola body score in IAR and LAR in patients with (A) and without (B) increased bronchial responsiveness 48 hours after antigen challenge.

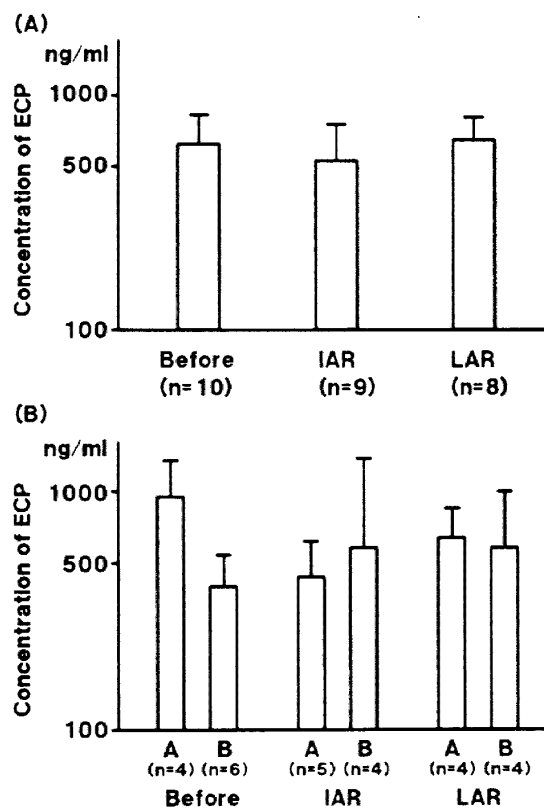


Fig. 6. (A) Time-related change of the concentration of ECP in sputum. (B) Comparison of the concentration of ECP in sputum between group A and group B. mean $\pm$ SEM.

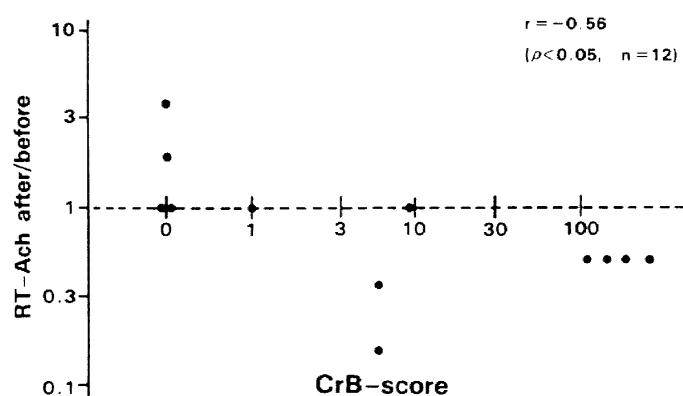


Fig. 5. Relationship between change of RT-Ach* and CrB-score after antigen challenge.

*RT-Ach: Respiratory threshold of acetylcholine.

ng/ml (n=5), 653 ± 0.11 ng/ml (n=4) であり、有意な変動は認められなかった。B 群における吸入前, IAR 時, LAR 時の喀痰中 ECP 濃度の geometric mean はそれぞれ 396 ± 0.13 ng/ml (n=6), 676 ± 0.31 ng/ml

(n=4), 676 ± 0.18 ng/ml (n=4) であり、有意な変動は認められなかった。A 群と B 群の比較では、吸入前において差が最も大きかったが、有意差は認められなかった。

考 案

われわれは今回12例の気管支喘息患者中6例において、抗原吸入誘発48時間後に気道過敏性の亢進を認め、しかも気道過敏性の亢進した症例の喀痰には気道上皮の集塊である CrB を多く認めた。これは抗原誘発後の気道過敏性亢進と気道上皮剥離の関係をヒトにて示した初めての報告である。われわれはすでにモルモット喘息モデルを用いて同様の結果を得ている。すなわちヒスタミン閾値を測定したモルモットを抗卵白アルブミン血清にて受動感作し、抗原吸入誘発し、24時間後に再度ヒスタミン閾値を測定した。その2時間後に気管支肺胞洗浄 (BAL) を行い、細胞成分を算定したところ、ヒスタミン閾値の変化と BAL 液中の気道上皮

細胞数は有意に逆相関した。すなわち、抗原誘発後にヒスタミン閾値が低下したもののほどBAL液中の気道上皮細胞数が多く、逆にヒスタミン閾値が上昇したもののBAL液中には気道上皮細胞数が少なかった²³⁾。またMiuraらは犬をインフルエンザCウイルスに接種前と2週間後に気道過敏性を測定し、気道過敏性の大きく亢進したもののほど気道上皮傷害の程度が高かったとしている²⁴⁾。

これらの報告は気道過敏性の亢進に気道上皮の傷害・剥離が関与することを支持するが、その亢進の機序についてはまだ不明な点が多い。気道粘膜の知覚神経末端を露出させることによる迷走神経反射や軸索反射を亢進させることによるのか¹⁴⁾¹⁵⁾、in vitroで示されているような気道上皮より遊離されるEpDRF¹³⁾¹⁴⁾¹⁷⁾の欠除を介するのかは不明である。さらに抗原誘発後、特にLARに一致する時には、BALや気管支生検で証明されているように好酸球^{25)~27)}、好中球²⁶⁾、また好塩基球²⁸⁾の集積が肺におこることが証明されている。これらの細胞は、気道過敏性を高めるとされるLTB₄、LTC₄、PAFなど²⁹⁾³⁰⁾を産生する能力がある³¹⁾。事実、抗原誘発後のBAL液中のLTB₄、LTC₄濃度上昇²⁸⁾や、血清中のPAF濃度上昇³²⁾が報告されている。ゆえに、われわれは抗原吸入誘発後気道過敏性の亢進した患者の喀痰中に有意に多くのCrB（気道上皮剥離）を認めたが、これが偶然の一致であり、本当の原因は同時に上昇した種々のchemical mediatorの濃度の差にある可能性も否定はできない。鑑別するためにはリドカインにより気道粘膜の知覚末端を麻痺させたり、今後開発されるであろう種々のchemical mediator拮抗薬を使用し検討を行う必要がある。今後の課題としてとり組みたいと考えている。

症例8, 12では気道過敏性がかえって低下している。この理由としてはdesensitizationが考えられる。抗原誘発時の気道収縮機序の一部には迷走神経反射があり、これは抗コリン剤が有効であることより支持される³³⁾³⁴⁾。抗原誘発時には大量のアセチルコリンが迷走神経末端より遊離されることが示唆され、これは気道平滑筋のムスカリニック受容体のdesensitizationをおこしうると考えられる。同様の現象はモルモットを用いた実験喘息²³⁾でも、Cockcroftらの報告³⁾でも認められている。

CartierらはLARの程度と気道過敏性亢進の程度が相関したと報告した⁴⁾。われわれもこの関係を検討したが、有意な相関は得られなかった。違う理由には不

明である。当教室の以前の検討でも、抗原誘発後に気道過敏性亢進を得ることは容易ではなく³⁵⁾、CartierらのLARをおこした7例全例が気道過敏性亢進を示したという結果⁴⁾は、常識的には有り得ないように思える。

次に気道上皮剥離の原因であるが、近年注目されているのは好酸球顆粒蛋白¹⁸⁾である。好酸球顆粒蛋白であるmajor basic protein (MBP)、eosinophil peroxidase (EPO)、eosinophil cationic protein (ECP)はin vitroで気道上皮の剥離をおこし³⁶⁾、その傷害をおこす濃度は気管支喘息患者の喀痰中に存在する²¹⁾³⁷⁾。更にわれわれは自然発作時に得られた95例の喀痰において、CrB scoreと喀痰中MBP濃度の有意な正相関を認めており³⁸⁾、in vivoでも好酸球顆粒蛋白が気道上皮剥離の一因になっていることを示唆した。さらに抗原誘発後のLARに一致して気道で好酸球顆粒蛋白の遊離が生じていることを示す報告がみられる²⁵⁾²⁶⁾³⁹⁾。なお好酸球の存在そのものは顆粒蛋白の遊離を意味するものではなく、喀痰中好酸球が多いにもかかわらず、CrBを認めない症例も多く存在する¹²⁾²⁰⁾。effector cellとしての好酸球をみる場合には、あくまで顆粒蛋白をみる必要がある。このように、抗原誘発→好酸球活性化→顆粒蛋白遊離→気道上皮剥離という仮説は理解し易いのであるが、われわれの成績ではこの仮説に合致しない点が3点あるように思える。

第一は、喀痰中ECP濃度が有意に上昇していない点である。Diaz²⁶⁾や藤沢ら³⁹⁾は、LARに一致した時点においてBALや喀痰中のMBPやECP濃度の有意な上昇を認めているが、その差はわずかなものである。自然発作時と寛解時において喀痰中MBP濃度は7倍、ECP濃度は5倍の差が認められること（投稿中）と比較すると、抗原誘発時の好酸球活性化はあるとしても著明なものではなく、新たに遊離された顆粒蛋白が気道上皮の剥離に大きく貢献しているとは考えにくい。

第二に、IAR時にも大量のCrBが認められる点である。in vitroでの好酸球顆粒蛋白による気道上皮剥離が12時間を要すること³⁶⁾は、抗原吸入後に遊離した顆粒蛋白による気道上皮剥離が生じると考えるには無理がある。

そこで気道上皮剥離の機序を以下のように考えた。すなわちIAR時に気道上皮が剥離して喀出されてくるということは、抗原吸入前にすでに気道上皮が剥離されやすい状態になっていたということである。当教

室の大橋は寛解期の気管支喘息患者より気管支生検を行い、電顕にてその起微形態を検討した。それによれば、気道上皮の tight junction および intercellular junction はほとんど正常のものからなり開大が認められるものまで種々の程度存在した⁴⁰⁾。上皮細胞間隙が開大していれば、発作時の気道収縮がわずかな好酸球顆粒蛋白遊離にて上皮剥離が生じうるとわれ、気道過敏性亢進群の気道上皮は、抗原吸入以前に細胞間隙が開大していたと考えられた。気道収縮も気道上皮剥離の一因になっている可能性は、磯島らの成績、すなわち数日発作が持続すると CrB が出現するという報告¹²⁾と一致する。磯島らは、発作初期では CrB は認められない¹²⁾としているが、われわれは事実大量の CrB を IAR 時に認めている。寛解時の気管支生検にて気道上皮の剥離が認められること⁷¹⁻⁹⁾より考えると、寛解時や発作の初期でも CrB が認められてよい。以上より、抗原吸入後に気道上皮の剥離およびそれにひき続く気道過敏性の亢進がおこるか否かは、抗原吸入誘発前の気道上皮の状態により前もってきめられていたのではないかと考えられた。しかし、今回の検討症例数は少なく、抗原吸入誘発後に好酸球活性化が起こるか、またそれが気道上皮剥離にどの様に関与するかに関しては、今後例数を増やしてさらに検討を重ねていきたい。

結 語

1. 12例の気管支喘息患者にダニの抗原吸入誘発試験を行い、6例に48時間後における気道過敏性の亢進を認めた。

2. 気道過敏性亢進を認めた患者の喀痰中には有為に多量の CrB を認め、気道過敏性の亢進に気道上皮傷害の関与が示された。

3. CrB は IAR 時にも認められ、吸入誘発前における気道上皮の傷害程度が剥離のおきやすさを決定していた可能性が示唆された。

文 献

- 1) Boushey, H.A., Holtzman, M.J., Sheller, J.R. and Nadel, J.A.: Bronchial hyperreactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.* 121, 389-413, 1980.
- 2) 牧野荘平, 池森亨介, 福田 健, 本島新司, 生井聖

一郎, 他: 気管支喘息におけるアセチルコリン吸入試験の標準法の臨床的検討. *アレルギー* 33, 167-175, 1984.

- 3) Cockcroft, D.W., Ruffin, R.E., Dolovich, J. and Hargreave, F.E.: Allergen-induced increase in nonallergic bronchial reactivity. *Clin. Allergy* 7, 503-513, 1977.
- 4) Cartier, A., Thomson, N.C., Frith, P.A., Roberts, R. and Hargreave, F.E.: Allergen-induced increase in bronchial responsiveness to histamine; relationship to the late asthmatic response and change in airway caliber. *J. Allergy Clin. Immunol.* 70, 170-177, 1982.
- 5) 寺師義典, 湯川龍雄, 寺師 薫, 本島新司, 福田健, 池森亨介, 牧野荘平: 感作モルモットにおける遅発型反応の出現とその発症因子に関する研究, “気道過敏性研究の進展度”(滝島 任, 宮本昭正編), 文光堂, 東京, pp.192-202, 1989.
- 6) Dunnill, M.S.: The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J. Clin. Pathol.* 13, 27-33, 1960.
- 7) Cutz, E., Levison, H. and Cooper, D.M.: Ultrastructure of airways in children with asthma. *Histopathology* 2, 407-421, 1978.
- 8) Laitinen, L.A., Heimo, M., Laitinen, A., Kava, T. and Haahtela, T.: Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131, 599-606, 1985.
- 9) Jeffery, P.K., Wardlaw, A.J., Fiola, C., Nelson, J.V., Collins, J.V. and Kay, A.B.: Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140, 1745-1753, 1989.
- 10) Naylor, B.: The shedding of the mucosa of the bronchial tree in asthma. *Thorax* 17, 69-72, 1962.
- 11) Naylor, B.: Creola bodies. Their “discovery” and significance. *Cytotechnologist's Bull.* 22, 33-34, 1985.
- 12) 磯島浩二, 高橋 清, 宗田 良, 深坂展行, 田辺耕三, 他: 気管支喘息患者喀痰中の Creola Body の臨床的意義について. *アレルギー* 38, 542-548, 1989.
- 13) 棟方 充, 川上義和: 気道上皮細胞の機能. 呼吸と循環 37, 590-601, 1989.
- 14) Barnes, P.J.: New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 1013-1026, 1989.
- 15) Simonsson, B.G., Jacobs, F.M. and Nadel, J.A.:

- Role of autonomic nervous system and the cough reflex in the increased responsiveness of airways in patients with obstructive airway disease. *J. Clin. Invest.* 46, 1812-1818, 1967.
- 16) Boucher, R.C., Pare, P.D. and Hogg, J.C.: Relationship between airway hyperreactivity and hyperpermeability in Ascaris-sensitive monkeys. *J. Allergy Clin. Immunol.* 64, 197-201, 1979.
 - 17) Vanhoutte, P.M.: Epithelium-derived relaxing factor(s) and bronchial reactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 855-861, 1989.
 - 18) Gleich, G.J. and Adolphson, C.R.: The eosinophilic leukocyte: Structure and function. *Adv. Immunol.* 39, 177-253, 1986.
 - 19) 牧野荘平, 小林節雄, 宮本昭正, 信太隆夫, 高橋昭三, 可部順三郎, 中島重徳: 気管支喘息及び過敏性肺臓炎における吸入試験の標準法. *アレルギー* 31, 1074-1076, 1984.
 - 20) 本島新司, 九嶋 敦, 緒方英嗣, 立石欣司, 福田健, 牧野荘平: 気管支喘息患者における喀痰中 Creola body の出現と気道過敏性の関係について. *アレルギー* 39, 377-383, 1990.
 - 21) Frigas, E., Loegering, D.A., Solley, G.O., Farrow, G.M. and Gleich, G.J.: Elevated levels of the eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma. *Mayo Clin. Proc.* 56, 345-353, 1981.
 - 22) Dor, P.J., Ackerman, S.J. and Gleich, G.J.: Charcot-Leyden crystal protein and eosinophil granule major basic protein in sputum of patient with respiratory diseases. *Am. Rev. Respir. Dis.* 130, 1072-1077, 1984.
 - 23) Motojima, S., Terasi, Y., Makino, S., Loegering, D.A. and Gleich, G.J.: The relationship between eosinophils and respiratory epithelial cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and airway responsiveness in a guinea pig model of bronchial asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139 (Suppl.), A480 (abstract), 1989.
 - 24) Miura, M., Inoue, H., Ichinose, M., Shimura, S., Katsumata, U., Kimura, K., Shindoh, Y., Tanno, Y. and Takishima, T.: Increase in luminal mast cell and epithelial damage may account for increased airway responsiveness after viral infection in dogs. *Am. Rev. Respir. Dis.* 140, 1738-1744, 1989.
 - 25) De Monchy, J.G.R., Kauffman, H.F., Venge, P., Koeter, G.H., Jansen, H.M., Sluter, H.J. and De Vries, K.: Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reaction. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131, 373-376, 1985.
 - 26) Diaz, P., Gonzalez, M.C., Galleguillos, F.R., Ancic, P., Cromweil, O., et al.: Leukocytes and mediators in bronchoalveolar lavage during allergen-induced late-phase asthmatic reactions. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139, 1383-1389, 1989.
 - 27) 會田秀介, 池田千鶴, 成松 博, 野口 久, 横川敏男, 他: 気管支喘息患者における経気管支内視鏡の室内塵抗原液滴下による内視鏡的及び組織学的研究. *アレルギー* 32, 274-281, 1983.
 - 28) 難波一弘, 高橋 清, 多田慎也, 清水一紀, 中藤研一, 他: house dust による気管支喘息患者遅発型気道反応の発生機序に関する検討. *アレルギー* 37, 67-74, 1988.
 - 29) 井上洋西: 気道過敏性と化学伝達物質. *肺と心* 35, 38-46, 1988.
 - 30) Hahn, H.L.: Role of parasympathetic nervous system and of cholinergic mechanisms in bronchial hyperreactivity. *Bull. Eur. Physiopathol. Respir.* 22(Suppl. 7), 112-142, 1986.
 - 31) Morris, H.G.: Physiology and pharmacology of prostaglandins and leukotrienes in bronchial asthma. In "Bronchial Asthma, Mechanisms and Therapeutics" 2nd ed. (ed. by Weiss, E.B., Segal, M.C. and Stein, M.), Little, Brown and Company, Boston, pp.160-179, 1985.
 - 32) Nakamura, T., Kuriyama, M., Ishihara, K., Ito, K. and Miyamoto, T.: Platelet-activating factor in late asthmatic response. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 82, 57-61, 1987.
 - 33) Yu, D.Y.C., Galant, S.P. and Gold, W.M.: Inhibition of antigen-induced bronchoconstriction by atropine in asthmatic patients. *J. Appl. Physiol.* 32, 823-828, 1972.
 - 34) Gross, N.J. and Skorodin, M.S.: Anticholinergic, antimuscarinic bronchodilators. *Am. Rev. Respir. Dis.* 129, 856-870, 1984.
 - 35) 福田 健, 牧野荘平: 抗原暴露による気道過敏性の変動. *アレルギー* 32, 502(抄), 1983.
 - 36) Motojima, S., Frigas, E., Loegering, D.A. and Gleich, G.J.: Toxicity of eosinophil cationic proteins for guinea pig tracheal epithelium in vitro. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139, 801-805, 1989.
 - 37) Motojima, S., Dunnette, S.L., Frigas, E. and Gleich, G.J.: Creola bodies and eosinophil granule proteins in sputa. *J. Allergy Clin. Immunol.* 79, 128 (abstract), 1987.
 - 38) Motojima, S., Ogata, H., Makino, S., Wagner, J. M. and Gleich, G.J.: Creola bodies, asthmatic attacks and the major basic protein in sputa. *J. Allergy Clin. Immunol.* 83, 281(abstract), 1989.
 - 39) 藤沢隆夫, 長谷川弘, 駒田幹彦, 内田幸恵: IgA を

- 介する好酸球脱顆粒について 第2報 抗原吸入
誘発試験による検討. アレルギー 39, 278(抄録),
1990.
- 40) Ohashi, Y., Motojima, S., Fukuda, T. and
Makino, S.: Presence of eosinophils and their

granules in the widened intercellular space in
bronchial epithelium taken from asthma
patients. *Am. Rev. Respir. Dis.* 189(Suppl),
A482 (abstract), 1989.

THE PARTICIPATION OF EPITHELIAL DESQUAMATION IN THE INCREASE OF
BRONCHIAL HYPERRESPONSIVENESS AFTER ANTIGEN CHALLENGE
IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

Atsushi Kushima, Shinji Motojima, Takao Yamai and Sohei Makino

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

Bronchial hyperresponsiveness (BHR) was evaluated before and after antigen challenge in 12 patients with bronchial asthma as allergic reaction to house dust mites. Six out of the 12 showed an increase in BHR 48 hours after antigen challenge. Although there was no difference in the decrease of FEV_{1.0} in IAR and LAR between patients with (group A) and without (group B) the increase of BHR after antigen challenge, patients in group A expectorated a significantly larger number of clumps of respiratory epithelial cells (Creola bodies, CrB) in their sputum in both IAR and LAR. In addition, the degree of the increase of BHR significantly correlated with the CrB score, which was determined from the number and the size of CrB. These results suggest that epithelial desquamation participates in the increase of BHR after antigen challenge. The concentration of the eosinophil cationic protein (ECP) in their sputum did not change significantly in IAR and LAR compared with that before antigen challenge. There was no difference in the concentration of ECP in their sputum between the two groups either. One antigen challenge seemed to be too mild to induce an elevation of the concentration of ECP in their sputum. Judging from the fact that CrB could be observed not only at LAR but also IAR, epithelial desquamation seemed to be dependent on the degree of damage before antigen challenge rather than on the activation of eosinophils after antigen challenge.
