

〔原 著〕

Candida 抗原による遅発型気道反応の機序に関する検討

—気管支肺胞洗浄所見を中心に—

岡山大学医学部第2内科

高橋 清 宗田 良 清水一紀 難波一弘
辻 光明 難波康夫 小栗栖和郎 武田勝行
猪木篤弘 菅野 尚 木村郁郎

重症難治性喘息の発症機序を解明する研究の一環として、その病態との関連性が想定されている *Candida* 抗原による遅発型気道反応 (LAR) を有する気管支喘息患者を対象に、*Candida* 抗原の吸入誘発試験を行い、末梢血中の細胞分類及び leukotrienes (LTs) を経時的に測定し、さらに LAR の発現約 2 時間後 (LAR 後) に気管支肺胞洗浄 (BAL) を施行し、得られた BALF 中の出現細胞と LTs を測定した。その結果、

1) *Candida* 抗原吸入後末梢血中好酸球は不変であったが、好中球及び好塩基球は LAR が発現するまで漸増し、LAR の発作中には減少する傾向にあった。一方、LAR 後の BALF 中には吸入試験未施行で非発作の状態でのそれに比し、有意な好酸球比率の増加 ($p < 0.01$)、及び好中球の増加傾向が認められた。

2) 末梢血及び BALF 中の LTC₄ は LAR 前に比し LAR の際に有意に増加した ($p < 0.01$, $p < 0.05$)。しかし、LTD₄ は全経過を通じ検出できなかった。また末梢血の LTB₄ は好中球の態度と同様に LAR に漸増した。

以上より *Candida* 抗原吸入により惹起される LAR には末梢血から肺気道局所へ遊出したと思われる好中球などの顆粒球が関与し、LTC₄ が化学伝達物質の一つとして重要な役割を担っていることが想定された。

Key words: bronchoalveolar lavage — *Candida* antigen — inflammatory cell — late asthmatic response — leukotrienes

緒 言

気管支喘息患者に該当抗原の吸入誘発試験を行う

Received: October 14, 1991

Accepted: February 13, 1992

Abbreviations: BAL(F) bronchoalveolar lavage (fluid); ECF-A eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis; FEV_{1.0} forced expiratory flow volume_{1.0}; HD house dust; IAR immediate asthmatic response; IgE (RAST) immunoglobulin E (radioallergosorbent test); IgE(RIST) immunoglobulin E (radioimmunosorbent test); IgG immunoglobulin G; LAR late asthmatic response; LTB₄, C₄, D₄ leukotriene B₄, C₄, D₄; LTs leukotrienes; NCF neutrophil chemotactic factor; PAF platelet activating factor; PFR peak expiratory flow rate

と、1 時間以内にみられる即時型気道反応 (IAR) 以外に、抗原吸入後 3 ~ 10 時間にピークを示す気道収縮反応が惹起されることが知られており、Pepys¹⁾ は遅発型気道反応 (late asthmatic response, LAR) として記載し、その機序の一つとして真菌による I 型あるいは III 型アレルギー反応の可能性を報告している。LAR の発作は重症でかつ遷延し、また一般の抗喘息薬治療に抵抗しステロイド剤が効果的であることより、重症喘息の病像と類似性を有していることが想定される。LAR の機序について著者ら²⁾³⁾ は、喘息患者に house dust (以下 HD) 抗原の吸入誘発試験を行い、肺局所への多彩な炎症細胞の集積が重要であることを既に報告しているが、HD は一般にアトピー型小児喘息の代表的な抗原として位置付けられている。一方、*Candida* が発症要因と考えられる症例は、中高年に至り喘息が発症し、小児喘息の如きアトピー素因が明瞭でなく、

重症化傾向が示され、木村の提唱する「中高年発症型難治性喘息」⁴⁾の疾患概念に重複する病態が示唆されている。さらに成人では、HD よりも *Candida* で LAR の発現が高頻度であったとの報告もあり、*Candida* 抗原が成人喘息の重症化、難治化の重要な要因のひとつであると考えられる⁵⁾。

そこで、*Candida* 抗原による LAR の発現機序を解明する目的で、気管支喘息患者に *Candida* 抗原の吸入誘発試験を行い、まず経時的に採血した。さらに LAR が発現した後に気道過敏性の変化と関連するとされる気道壁に浸潤した顆粒球を生検標本で検討することが望ましいが、技術的に困難なため、今回は気管支肺胞洗浄(以下 BAL)を施行し、その回収液(以下 BALF)及び末梢血中の細胞成分比率と leukotrienes(LTs)を測定し、気道反応発現との関連性について検討を加えた。

対象と方法

1. 対象

対象には当科外来通院中の気管支喘息患者の中で、*Candida* の遅発あるいは遅延型皮膚反応が陽性で、検査前12時間気管支拡張剤などの服用を中止しても発作の認められない喘息症例を選んだ。このうち *Candida* 抗原の吸入誘発試験で吸入後3～12時間に発作のみられた LAR 陽性例について、検査内容と意義を説明し承諾の得られた8例を対象として、入院により以下の検査を行った。なお、対象症例の背景因子としては、男性3例、女性5例、平均年齢 38.7 ± 12.76 歳であり、血清 IgE 値は平均 555.05 ± 728.91 IU/L、*Candida* に対する IgE の RAST score は全例陰性であった。この8例はすべて過去に重症発作の既往があるものの、今回の検査前1年間の重症度は中等症で、比較的良好なコントロールの状態にあり、経口、吸入のステロイド剤は少なくとも検査前1カ月間は使用していなかった。

2. 方法

抗原吸入誘発試験は、*Candida* 抗原乾燥末(鳥居薬品より提供)を用いて、吸入試験標準化研究会及び厚生省班研究で作成された「気管支喘息における吸入試験の標準法」に基づいて行った。すなわち *Candida* 抗原の $\times 10^6$ 希釈液を Devil-biss Model 646 neblizer を用いて圧縮空気5l/分でエアロゾルを発生させ2分間

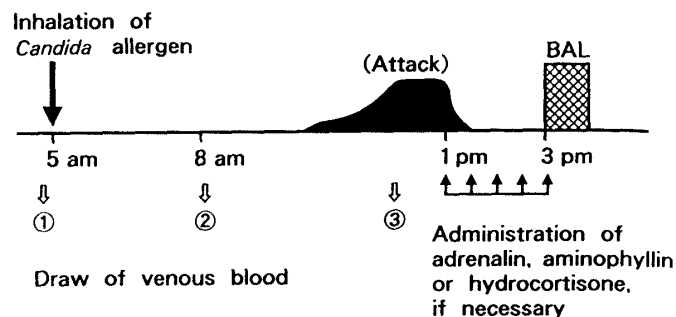


Fig. 1. Procedure of BAL-examination in late asthmatic response.

吸入させ、即時型気道反応が認められない場合には順次10倍ずつ濃度をあげ、最高濃度の $\times 10^3$ まで吸入させた。なお、今回の対象症例は全例即時型反応が認められず、最終的には $\times 10^3$ 希釈液を2分間吸入した。気道反応の判定基準は、吸入後12時間まで経時的に FEV_{1.0} を pulmonary function indicator (米国 NCG 社製)にて、また peak expiratory flow rate (PFR) を mini light peak flow meter (英国クレメント・クラーク社製)にて測定し、あらかじめ吸入誘発試験の際の休薬と同じ状況下で行った対照の FEV_{1.0}あるいは PFR に比し20%以上低下した場合を陽性とした。以上の方法で Fig. 1 のごとく *Candida* 抗原の吸入誘発試験を行い、まず吸入試験開始前、3時間後、及び LAR の発作中の3回末梢静脈血を採取し、その細胞成分と LTs を測定した。さらに LAR 発作を約1時間観察した後に、キサンチン誘導体、 β 交感神経刺激薬などを用いて治療を行い、約2時間後に自覚症状及び理学的所見が改善し、PFR 値が吸入誘発開始前の状態に回復したことを確認した時点で BAL を施行した。なお、かかる気道反応後の BAL 所見の対照には、おのおのの症例についてあらかじめ吸入試験未施行で非発作の時期に BAL を施行し、BALF 中の出現細胞比率と LTs を測定した。

なお BAL の方法は、型のごとく気管支ファイバー(オリンパス BF1T10)を右中葉に喫入して滅菌生理食塩水50mlを注入後、ゆるやかに吸引し、その操作を4回繰り返した。

各検体の処理については、まず末梢血は各採血時期の顆粒球数の変動を教室で考案された好酸球・好塩基球同時直接算定法⁶⁾で好酸球、好塩基球を、好中球は塗抹標本の比率から算出し、さらにその10mlを直ちに純エタノール40mlと遮光遠沈管内で混和し、窒素ガスにて置換後密封し、LTs 測定まで -80° にて保存した。

また BALF については、その 5ml を直ちに氷冷した純エタノール 20ml とともに遮光した遠沈管内で混和し、末梢血の測定と同様に処理した。さらに細胞成分は、オートスメア（小西写真社製 CF-12SB）にて塗抹標本を作製し、May-Giemza 染色を行い顕微鏡下で強拡大（ $\times 1000$ ）にて観察した。なお、LTs の測定は、著者らの方法⁴⁾に従って行った。すなわち BALF、末梢血ともに $400 \times g$ で 10 分間冷却遠沈し、エタノール層を SEP-PAC C₁₈（Waters 社製）にて 2 回処理した後蒸発乾固し、50% アセトニトリル 500 μ l に溶解して再度冷却遠沈し、その上清を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に注入して LTC₄、LTD₄、LTB₄ を定量した。

なお、統計学的検討は Student t test で行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。また偏差値はすべて SEM で表示した。

結 果

1. 顆粒球の態度

(1) 末梢血中顆粒球の経時的変動

Candida 抗原吸入により惹起される LAR に至る末梢血顆粒球の推移を検討する目的で、吸入の直前、3 時間後、及び LAR の発作中における各種顆粒球数を測定した。その結果は Fig. 2 のごとく、好中球と好塩基球は 3 時間後に増加し、LAR 時には減少する傾向であったが、好酸球には変化が認められなかった。

(2) BALF 中出現細胞の比率

さらに LAR の反応局所である BALF 中への顆粒球の出現比率について検討したところ、まず好酸球については、Fig. 3 のごとく非発作時の BALF 中には $2.77 \pm 4.92\%$ の出現がみられたが、LAR 後で $6.68 \pm 15.63\%$ と推計学的に有意に増加していた（ $p < 0.01$ ）。

また好中球については、対照の吸入試験未施行で非発作時の BALF には $1.75 \pm 3.18\%$ の出現率であったが、*Candida* 吸入による LAR の後には $2.01 \pm 4.19\%$ とやや増加する傾向であった。

一方好塩基球・肥満細胞系の出現率は、非発作時に $0.05 \pm 0.08\%$ 、LAR 後には $0.14 \pm 0.11\%$ と増加した症例があったものの有意な差は認められなかった。

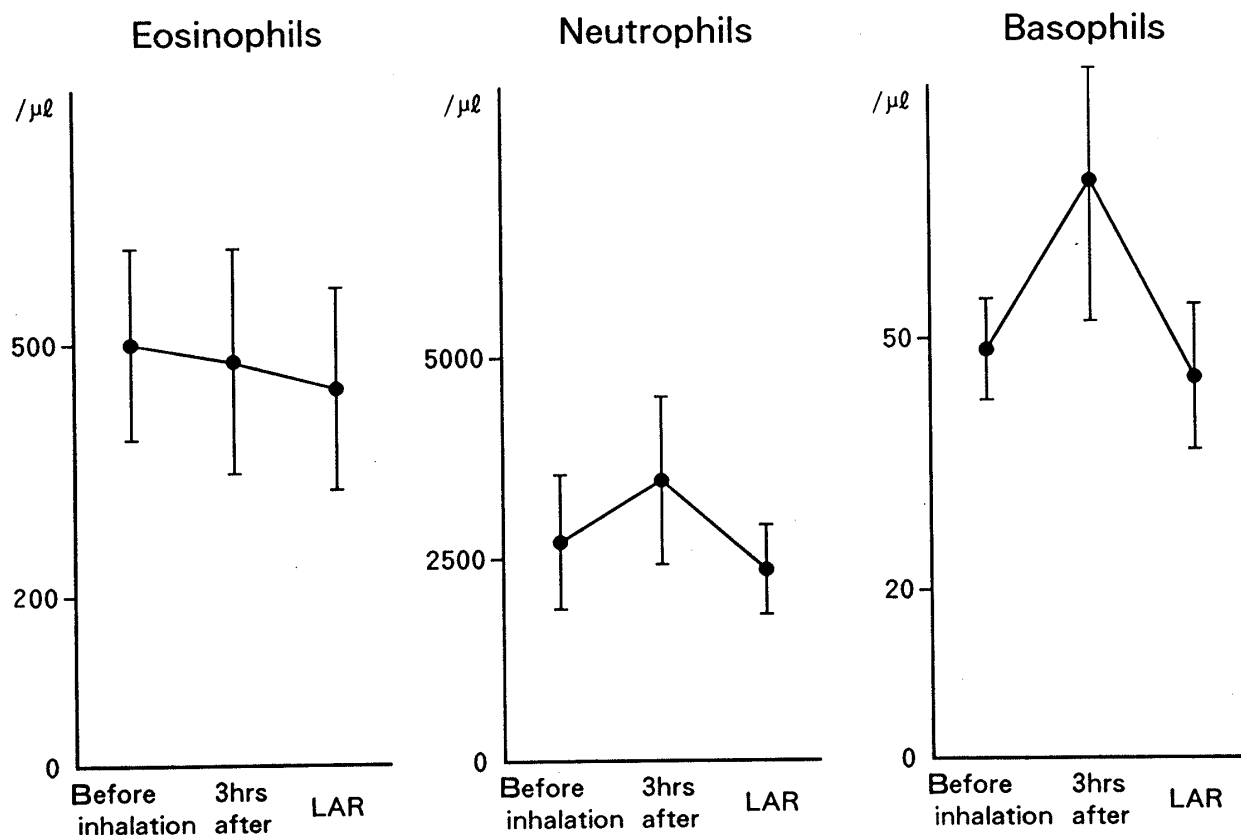


Fig. 2. Change in number of peripheral blood granulocytes on late asthmatic response provoked by inhalation of *Candida* allergen in *Candida* sensitive asthmatics (n=8).

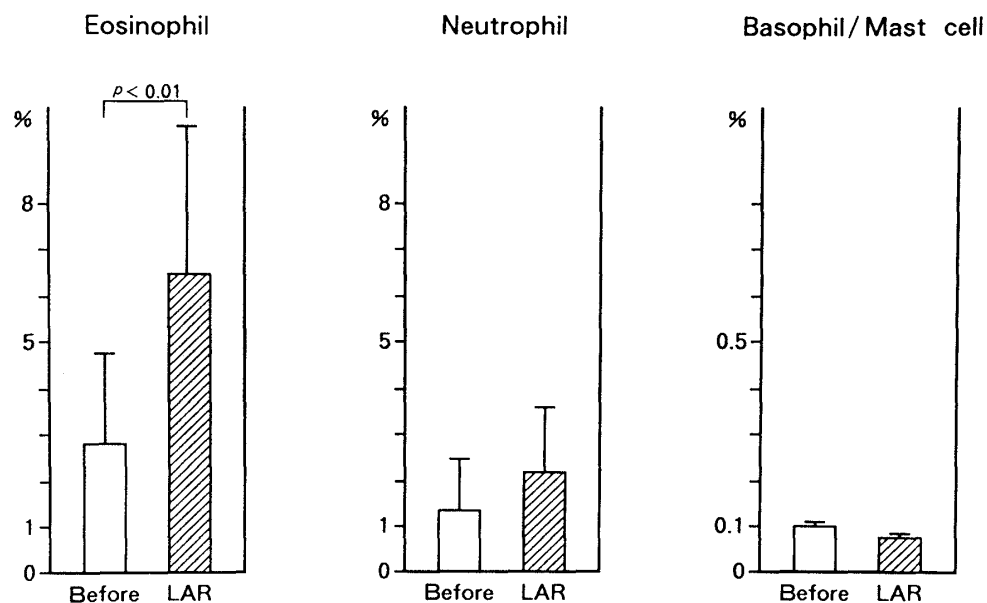


Fig. 3. Incidence of each granulocyte in BALF after late asthmatic response provoked by inhalation of *Candida* allergen in *Candida* sensitive asthmatics (n = 8).

なお、リンパ球については、非発作時に $15.32 \pm 8.05\%$ 、LAR後にも $15.0 \pm 10.59\%$ といずれも健常人に比し高率であったが、LAR前後での変動は認められなかった。

今回検討した各症例におけるBALF中出現細胞数及び回収率の平均は、非発作時では $9.7 \pm 2.5 \times 10^6$ cell

と $52.2 \pm 9.8\%$ 、また吸入試験後のBALでは $15.1 \pm 5.3 \times 10^6$ cellと $41.5 \pm 14.6\%$ であった。

2. LTsの態度

(1) 末梢血中LTsの経時的変動

次に、気管支平滑筋の強い収縮作用を有する LTC_4 の末梢血中濃度を経時的に測定すると、Fig. 4に示す

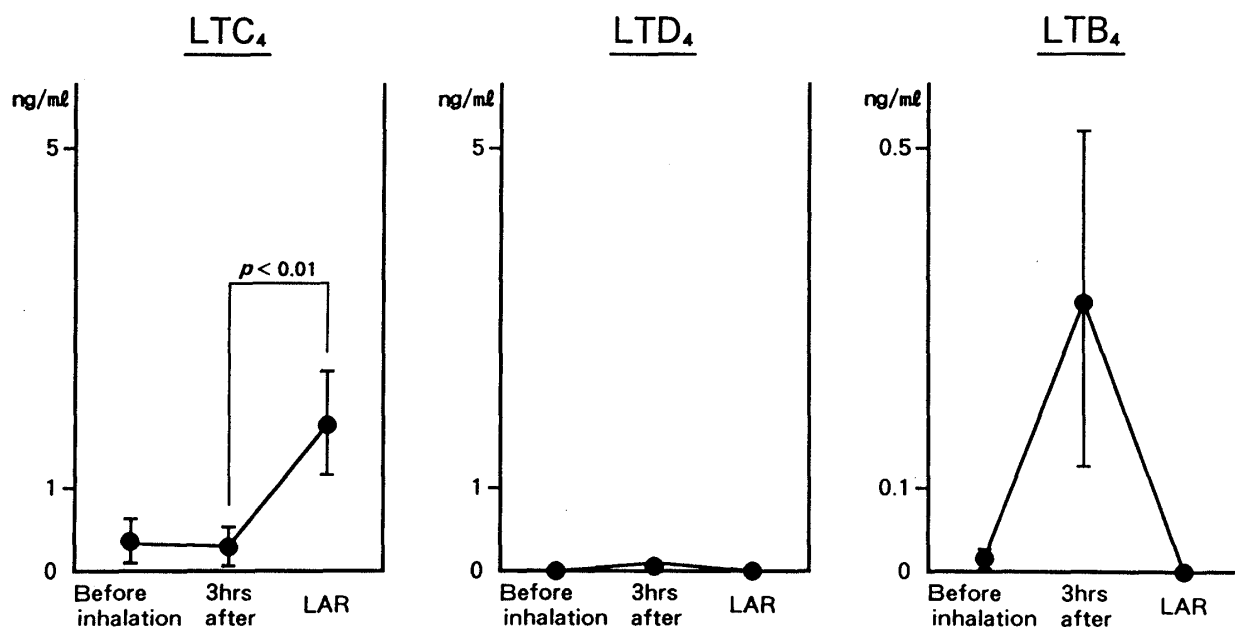


Fig. 4. Concentration of LTC_4 , LTD_4 and LTB_4 in peripheral blood on late asthmatic response provoked by inhalation of *Candida* allergen in *Candida* sensitive asthmatics (n=8).

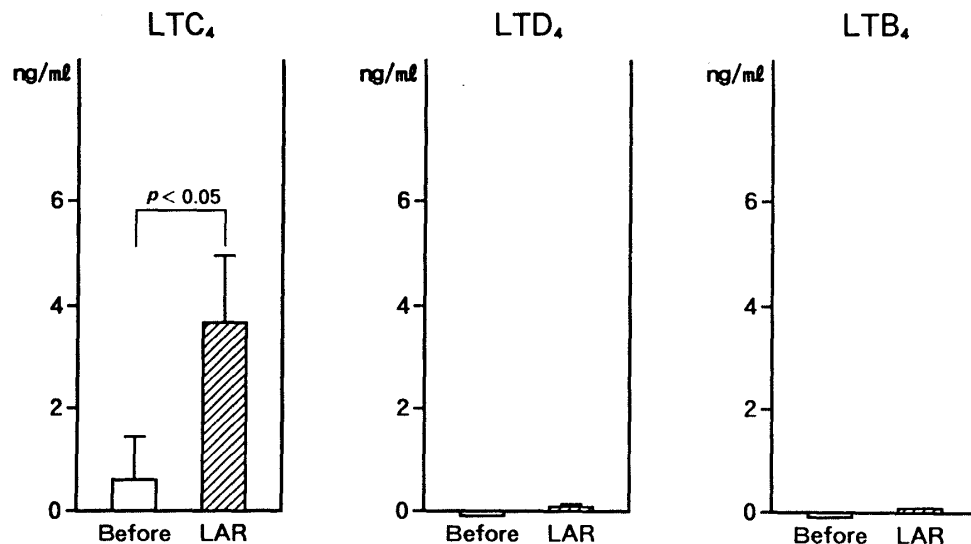


Fig. 5. Concentration of LTC₄, LTD₄ and LTB₄ in BALF after late asthmatic response provoked by inhalation of *Candida* allergen in *Candida* sensitive asthmatics (n=8).

ごとく吸入誘発試験前から3時間後までは有意な変動は認められなかったが、LAR時には著明に高値を示し、LAR発作前に比し有意に増加していた ($p < 0.01$).

一方 LTD₄は吸入試験40分後に $0.886 \pm 2.09 \text{ ng/ml}$ とわずかに検出し得たのみであった。

また、LTB₄は吸入誘発試験前に比し3時間後には有意に増加した ($p < 0.05$) が、LARの発作中には検出できなかった。

(2) BALF中のLTs

気道反応局所に遊走集積した各種炎症細胞から放出されるLTsを、まずBALFで検討すると、Fig. 5のごとく LTC₄は吸入試験未施行で非発作の時期に $0.73 \pm 1.01 \text{ ng/ml}$ であったのに比して、LAR後では $3.26 \pm 2.27 \text{ ng/ml}$ と推計学的に有意な高値を示した ($p < 0.05$)。一方、LTD₄及びLTB₄は吸入試験未施行時とLAR後にほとんど検出できなかった。

考 察

重症難治性喘息の病態解明の一環として、その発症に重要な要因を成すと考えられている *Candida* 抗原によるLARの機序を明らかにする目的で、抗原吸入誘発試験を行いその経過中の末梢血とBAL所見を検討した。その結果、細胞の態度に関しては、まず末梢血中では吸入試験3時間後に増加した好中球と好塩基

球がLAR時には減少し、LAR後のBALF中には好酸球及び好中球比率が増加しており、末梢血からの移行が想定された。また強力な気道収縮性化学伝達物質の一つである LTC₄は、*Candida* 吸入によって末梢血、BALFのいずれでもLAR前に比しLARの際に有意に増加しており、気道反応を惹起する mediator の一つとして重要であると考えられた。また細胞の遊走活性を有する LTB₄は抗原吸入後3時間で高値を示し、LAR発現のための細胞集積の要因となっている可能性が示唆された。

今回の検討では、著者ら²⁾³⁾の既報のHD抗原吸入後にみられた気道反応の際のBALF所見と同様、非発作時に比べて、好酸球及び好中球が反応局所に多数遊出し、またこれらの細胞由来と考えられる LTC₄が有意に高値を示したことから、*Candida* 抗原によるLARの機序にもかかる細胞反応と LTC₄の関与していることが示唆された。すなわち、末梢血中の LTB₄及び好中球が、吸入試験3時間後に増加し、LAR発作時には減少しており、抗原吸入後好中球の遊走能を有する LTB₄が気道反応局所の肺胞マクロファージなどで産生放出され、好中球が末梢循環から徐々に気道組織に遊出しBALF中に出現するものと思われた。

一方好酸球は、*Candida* 特異的 IgE あるいは IgG 抗体を介して放出される肺組織内肥満細胞に由来する ECF-A、PAF、LTB₄や、*Candida* に感作された肺局所のリンパ球から放出される遊走活性を有する IL-5 などのリンフォカイン⁷⁾⁻⁹⁾を介してLAR反応局所の

BALF中に遊走したものと思われた。なお、好塩基球は抗原吸入3時間後の末梢血に増加し、発作中には減少していたが、反応局所での比率には差が認めなかった。その理由としては、BALF中での比率がごく低率のため、その変化を明瞭にし得なかったものと考えられる。

また、末梢血中及びBALF中のLTC₄はLAR発作時に著明に高値を示していた。この成績はLARなどのアレルギー反応を呈する症例における末梢血中の好酸球、好中球¹⁰⁾¹¹⁾のLTs産生能は亢進しているとの報告と合わせ、LARの際には気道局所に遊走し活性化された顆粒球からLTsが多量に産生されたことを示しており、その結果として強く長時間にわたる気管支収縮反応が惹起されることが想定される。

今回の検討がHDによるLARのそれと大きく異なる点の第1は、対象症例のCandida特異的IgE (RAST score)が陰性であったにもかかわらず、LARが発現したことである。すなわちCandidaのLAR発現にはIgEのみならず他の要因、例えば小栗栖らの報告するLAR症例の血清中に増加したCandida特異的IgG₁抗体¹²⁾などが関与している可能性も想定される。第2点は、CandidaによりLARを呈する喘息症例では、健康人やHDのそれに比し非発作時においても既にBALF中リンパ球数が増加していることである。さらにCandida吸入でLARを呈する症例はそうではない症例に比し末梢血リンパ球のCandida刺激による幼若化反応が有意に亢進する成績¹³⁾も得ており、したがってCandida喘息ではリンパ球を介する反応系が特に重要であると考えられる。

気管支喘息の病態のうち内科領域で最も問題となる成人型重症喘息を、木村は独立した疾患群として「中高年発症型難治性喘息」と提唱している⁴⁾。その病態は、小児喘息のごときアトピー素因が明瞭でなく、IgEよりもむしろIgG抗体の関与が示唆され¹⁴⁾、かつ発作が通年性で遷延しやすくステロイド依存性であるなどの特徴を有し、Candidaがその病因の一因を成している可能性が想定されている。さらにCandida抗原に対する遅発型、遅延型の皮内反応や気道反応の関与とか、重症発作に移行しやすいことなども挙げられ、成人型重症喘息の基本病態の可能性が示唆される^{2)15)~17)}。

Candidaによる喘息の発症機序にはIII型、IV型アレルギー反応が関与すると考えられる。まずIII型アレルギー反応に関して、今回吸入に用いたマンナンはその主成分の¹⁸⁾Candida培養濾液がIgE抗体よりもむしろ

Candida特異的IgG抗体産生に重要であり、著者らの樹立したCandida特異的IgG抗体産生株からのモノクローナル抗体の大部分がそのマンナン部分に結合することや¹⁹⁾、小栗栖¹²⁾や、月岡²⁰⁾によるCandida喘息患者の抗原特異的IgG抗体の関与などが報告されている。また気管支喘息患者の気管支粘膜基底膜にIgGや補体の沈着とかIgG産生細胞が増加する症例が報告され²¹⁾²²⁾、さらに好塩基球・肥満細胞系や好中球、好酸球がIgG receptorを介してLTs、O₂⁻など多彩な化学伝達物質を放出する報告³⁾¹⁶⁾²³⁾²⁴⁾などからもその関与が示唆される。

さらに、IV型アレルギー反応の関与については、重症難治群のBALFリンパ球はCandida抗原により活性化されており⁷⁾¹⁰⁾、NCA²⁵⁾及びECA²⁶⁾産生能も相関することが判明している。したがってCandida抗原吸入によるLAR発作では、好塩基球・肥満細胞系よりむしろリンパ球²⁾¹³⁾などから好中球、好酸球、好塩基球の遊走活性因子であるIL-3²⁶⁾、IL-5⁷⁾⁻⁹⁾²⁶⁾、IL-8²⁷⁾、GM-CSF²⁸⁾などのサイトカインが放出される。その結果、各種炎症細胞が反応局所へ遊走集積し、LTC₄などの気管支収縮性物質が放出され、LARが惹起されるものと想定される。木村はかかるIII型、IV型アレルギー反応の共存する炎症細胞ネットワークを“細胞反応型アレルギー、cell-mediated allergy”²⁹⁾と提唱している。

以上より、Candida抗原によるLARは、既報のHDでみられるようなIARから連動したLARとはその機序が異なっているように思われる。すなわちHDのLARでは、主にIgE receptorを介して肥満細胞由来のECF-A、PAF、LTB₄が細胞を集積させるのに比し、CandidaのそれはIgG抗体を介する肥満細胞の反応とリンパ球の関与、すなわち細胞反応型アレルギーが優位となり、かかる遊走活性因子放出機構により炎症細胞が集積されることが想定される。なお、この機序についてはいまだ不明な点が多く残されており、今後さらに検討する予定である。

文 献

- 1) Pepys, J. and Hutchcroft, B.J.: Bronchial provocation tests in etiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 112, 829-859, 1975.
- 2) 木村郁郎: 遅発アレルギーの発症機序。一細胞反応を中心に。第3回免疫薬理シンポジウム議事

- 録 (富岡玖夫 編). デー・エムペー・ジャパン, 東京, pp.23-40, 1985.
- 3) 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症機序に関する検討—気管支肺胞洗浄法を中心に. アレルギー 37, 67-74, 1988.
 - 4) 木村郁郎: 喘息の病型とその本質論—中高年発症型難治性喘息の独立性. 日胸会誌 21, 181-182, 1983.
 - 5) 高橋 清: 高齢者のアレルギー. アレルギー 40, 335 (抄録), 1991.
 - 6) 木村郁郎, 守谷欣明, 西崎良知, 谷崎勝朗: 好塩基球および好酸球の適切な同時直接算定法と過敏指数について—Basophilogram を含めて—. 臨床病理 17, 645-650, 1972.
 - 7) 河田一郎: 気管支喘息の発症機序における好酸球の動態に関する研究 第2編 カンジダ抗原による末梢血単核球由来好酸球遊走因子について. 岡山医会誌 102, 745-755, 1990.
 - 8) 高橋寿保: 気管支喘息における好酸球動態の調節に関する研究 第1編 —喘息患者末梢血単核球由来の好酸球遊走因子 (ECF) の解析—. 岡山医会誌 103, 779-789, 1991.
 - 9) 高橋寿保: 気管支喘息における好酸球動態の調節に関する研究 第2編 —喘息患者末梢血好酸球の遊走能に関する検討. 岡山医会誌 103, 791-801, 1991.
 - 10) Weller, P.F., Lee, C.W., Foster, D.W., Corey, E. J., Austen, K.F. and Lewis, R.A.: Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotrienes by human eosinophils: Predominant production of leukotriene C₄. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 7626-7630, 1983.
 - 11) 高橋 清, 清水一紀, 難波一弘, 中山堅吾, 岡田千春, 辻 光明, 他: 重症難治性喘息患者における末梢血好中球分画からのロイコトリエン産生能に関する検討. アレルギー 37, 322-330, 1988.
 - 12) 小栗栖和郎, 高橋 清, 多田慎也, 宗田 良, 難波一弘, 他: 成人喘息における IgG サブクラス抗体に関する研究 第1報 血清中抗原特異的 IgG サブクラス抗体と遅発型気道反応の関連について. アレルギー 40, 506-515, 1991.
 - 13) 金廣有彦, 江田良輔, 小栗栖和郎, 小塚明子, 猪木篤弘, 他: 気管支喘息の病態における感作リンパ球の関与について—*Candida* 及び mite 抗原特異的リンパ球幼若化反応による検討. アレルギー 39, 1261 (抄録), 1990.
 - 14) 岡田千春, 高橋 清, 宗田 良, 松岡 孝, 難波一弘, 他: 遅発型気道反応における好塩基球表面結合免疫グロブリンの検討—IgG レセプターの関与を中心に. アレルギー 37, 5-11, 1988.
 - 15) 可部順三郎: 真菌とアレルギー. 治療 68, 2030-2034, 1986.
 - 16) 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋 清, 多田慎也, 駒越春樹, 他: 気管支喘息におけるカンジダ抗原の特徴. 一統計学的観察. 日胸会誌 24, 150-155, 1986.
 - 17) 高田 稜, 木村五郎, 山縣浩一, 宗田 良, 多田慎也, 他: 喘息患者末梢血からの Epstein-Barr Virus (EBV) —Transformation 法を用いた抗カンジダ抗体ヒト型モノクローナル抗体の制作. アレルギー 39, 1262 (抄録), 1990.
 - 18) Gumowski, P.I., Dunoyer-Gerindre, S. and Girard, J.P.: Diagnostic problems in mold allergies. *ACI News* 3, 71-75, 1991.
 - 19) Savolainen, J., Viander, M. and Koivikko, A.: IgE, IgA and IgG-antibody responses to carbohydrate and protein antigens of *Candida albicans* in asthmatic children. *Allergy* 45, 54-63, 1990.
 - 20) 月岡一治: カンジダ喘息の発症機序に関する研究 第3報 吸入誘発型と I 型および III 型アレルギーの関連について. アレルギー 34, 289-296, 1985.
 - 21) Callera, M.L., Condemi, J.J., Bohrod, M.G.: Immunologic reactions of bronchial tissues in asthma. *N. Engl. J. Med.* 284, 459-464, 1971.
 - 22) 尾崎公孝: アレルギー性肺疾患における末梢気道領域の免疫応答に関する研究 第2編 気管支喘息における末梢気道肺胞領域の免疫組織学的検討. 岡山医会誌 102, 911-920, 1990.
 - 23) 木村郁郎, 高橋 清: 老人性の難治性喘息—中高年発症型難治性喘息を中心に. *Pharma Medica* 5, 45-50, 1987.
 - 24) 木村郁郎: ステロイド依存に対する見解. *Clinician* 365, 73-77, 1987.
 - 25) 宮川秀文, 難波一弘, 白石高昌, 名部 誠, 榎本晃, 他: 重症難治性喘息における IV 型アレルギーの関与について—カンジダ抗原による IL-2 産生能と好中球遊走活性. アレルギー 37, 12-18, 1988.
 - 26) 高橋 清: 気管支喘息の病態における好塩基球・肥満細胞系の役割に関する最近の知見. 臨床免疫会誌 13, 454-458, 1990.
 - 27) Leonard, E.J., Skeel, A., Yoshimura, T., Noer, K., Kutvirt, S. and Van Epps, D.: Leukocyte specificity and binding of human neutrophil attractant/activation protein-1. *J. Immunol.* 144, 1323-1330, 1990.
 - 28) Wang, M.J., Collella, S., Allavena, P. and Mantovani, A.: Chemotactic activity of human recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Immunology* 60, 439-444, 1987.
 - 29) 木村郁郎: 気管支肺病変におけるアレルギーとリンパ球. アレルギー 19, 12-16, 1990.

STUDIES ON THE MECHANISM OF LATE ASTHMATIC RESPONSE BY *CANDIDA* ANTIGEN
INHALATION USING BRONCHOALVEOLAR LAVAGE

Kiyoshi Takahashi, Ryo Soda, Kazuki Shimizu, Kunihiro Nanba, Mitsuaki Tsuji,
Yasuo Nanba, Kazuro Ogurusu, Katsuyuki Takeda, Atsuhiko Inoki,
Hisashi Sugano and Ikuro Kimura
Second Department of Medicine, Okayama University Medical School

To elucidate the mechanism of late asthmatic response (LAR), which is related to intractable asthma attack, the cellular and humoral components of LAR were examined in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) obtained after bronchial inhalation tests with *Candida* allergen on *Candida*-sensitive asthma patients. BAL examination was carried out 2 hours after remission of LAR, and differential cell counts and measurements of leukotrienes (LTs) by high performance liquid chromatography were investigated in BALF and peripheral blood.

The number of neutrophils and basophils in circulating blood showed a peak before LAR, and then decreased markedly at LAR. And an increase in the percentage of eosinophils ($p < 0.01$) and neutrophils was evident in BALF after LAR compared with the level in the non-attack state. The percentage of basophil-mast cells, however, did not change in the same manner. The serum level of LTC₄ increased significantly at LAR in comparison with its level in the phase before LAR. And the level of LTC₄ was also significantly higher in BALF after LAR ($p < 0.01$). However, LTD₄ and LTB₄ were at almost undetectable levels in BALF in the non-attack state and after LAR.

The results indicate that neutrophils as well as eosinophils may accumulate and release several kinds of leukotrienes at local sites in late asthmatic response provoked by the inhalation of *Candida* antigen; this gives clues as to the mechanism of severe and intractable asthma attacks.
