

遅発型気道反応の発現機序に関する基礎的研究

— 吸入抗原の局在について —

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

武 田 勝 行

(平成 5 年 2 月 12 日 受稿)

Key words : alveolar macrophage, guinea pig, ^{125}I -ascaris, late asthmatic response (LAR), localization of inhaled antigen

緒 言

気管支喘息患者に抗原吸入試験を行なったときにみられる各種気道反応のうち遅発型気道反応 (LAR)¹⁾は、即時型気道反応 (IAR) と比べて $\beta 2$ 刺激薬に反応し難くステロイド薬でよく抑制されることや、発作が持続する特徴を有しており、多くの点で重症難治性喘息と類似性があることから、その機序解明の重要性が近年特に注目されつつある。かかる LAR の機序は現時点では抗原吸入に際して肥満細胞由来の各種細胞遊走因子のみならず、リンパ球や肺泡マクロファージ由来のサイトカインなどにより気道局所に集積し活性化された炎症細胞が化学伝達物質を放出し、その結果気道攣縮が引き起こされると考えられている²⁾⁻⁷⁾。

一方、吸入された抗原そのものの気道反応への関わり及び動態については、IAR においては吸入抗原は肥満細胞上に結合した IgE 抗体と結合し、続いて同細胞より化学伝達物質が放出されて気道反応を起こすとされている⁸⁾。また抗原物質は IAR 時には気道からのクリアランスが遅延するとも報告⁹⁾されている。しかし、LAR の発症に際しては、吸入された抗原の動態および発作への関与については殆ど明らかにされていない。そこで今回 ^{125}I で標識した感作抗原及び非特異物質を、モルモットに作成した喘息モデルの気道に投与し、惹起された IAR と LAR の前後の気管支肺胞洗浄液 (BALF) および細胞分画における標識抗原物質を測定した。さらに

BALF 細胞塗抹標本及び摘出肺組織にオートラジオグラフィーを行ない抗原物質の局在を検討したところ、抗原物質が LAR の発症に深く関与している事が判明したので報告する。

対象と方法

1. 対 象

対象には、約 200 g の Hartley 系の雄性モル

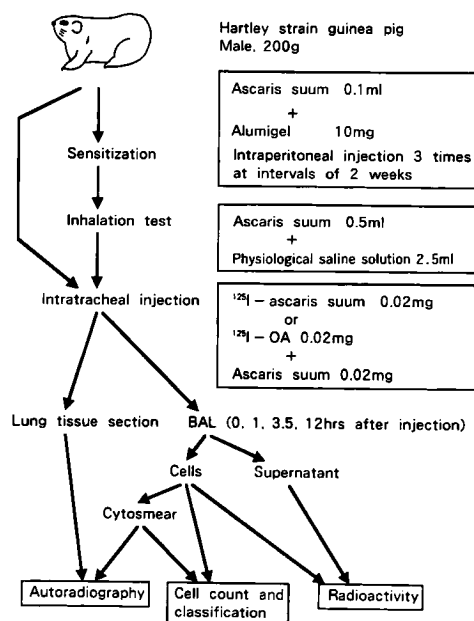


Fig. 1 Experimental procedure in the guinea pig.

モットに以下の方法で喘息動物モデルを作製し実験に供した。なおモルモットの飼育には固形飼料と水を用い、感作開始前約2週間岡山大学医学部付属病院実験施設において検疫・飼育を行なった。

2. 感作モルモットの作成

感作は飯島ら¹⁰⁾の変法である沖の方法¹¹⁾に準じて行なった(Fig. 1)。すなわち、モルモットに *ascaris suum* 抗原液 (Greer Laboratories 社, USA) 0.1ml を水酸化アルミニウムゲル10mgとともに2週間間隔で3回腹腔内注射をして感作を行なった。感作終了1週間後に生理食塩水で6倍に希釈した *ascaris* 抗原液 3ml を、プラスチック製の吸入箱 (40×25×15cm) に入ったモルモットに対して、ジェットネブライザー (日本商事製) とコンプレッサー (日本共立医科工業製) を接続して10分間吸入させ気道反応の誘発を試みた。

3. 気道反応の判定

IAR 及び LAR の判定は、前述の感作モルモットに小動物用呼吸ピックアップ (日本光電社製) を装着し吸入誘発前、吸入直後、吸入5時間後に呼吸曲線を記録し、この呼吸曲線上において吸入直後に呼気と吸気の比 (E/I) が2.0以上を示す波が5個以上連続するものを IAR 陽性とし、5時間後に同条件を満たすものを LAR 陽性とした。今回感作誘発を行なったモルモットにおいては、IAR のみ陽性のもの、IAR 及び LAR の両気道反応が陽性のもの、そして気道反応の見られないものの3群を認めた。但し呼吸曲線上変化が認められなくても気道反応が生じている可能性があるため、今回の実験では前述の気道反応陽性群と、その対照群 (無気道反応群) としては感作及び吸入誘発を行なわなかったモルモットを使用した。

4. 抗原物質の標識

ascaris 抗原、及び対照に非特異物質として用いた ovalbumine (OA) (Grade III, Sigma 社: USA) に対して、ラクトペルオキシダーゼ法 (Radioiodination System, New England Nuclear 社: USA) を用いて ¹²⁵I で標識した。

5. 抗原物質の注入

モルモットを sodium pentobarbital (ダイナ

ボット社) 20mg/kg 腹腔内注射で麻酔した後に気管を手術的に露出し標識抗原物質を注入した。注入する標識抗原と OA は、色素結合法 (プロテインアッセイキット, Bio Radd 社: USA) を用いあらかじめ総蛋白質量で0.02mgとなるように調製しておいた。なお標識 OA を注入する際には、気道反応を誘発する目的で同時に非標識 *ascaris* 抗原をタンパク質量にて0.02mgに調製し注入した。

6. BALF と肺組織の摘出

標識抗原物質注入時より IAR の前後として30秒後、1時間後、及び LAR の前後として3.5時間後、12時間後に気管支肺胞洗浄 (BAL)、さらに肺組織の摘出を行なった。BAL は麻酔を行なった後に、気管を切開しプラスチック製のチューブを挿入し生理食塩水10mlづつ3回、合計30mlにて行ない、その後肺組織を摘出した。

今回の実験における各群の個数は、¹²⁵I-*ascaris* を注入した気道反応陽性群は計28匹であり、そのうち IAR 前9匹、IAR 後6匹、LAR 前6匹、LAR 後7匹であり、また¹²⁵I-*ascaris* を注入した無反応群と、¹²⁵I-OA を注入した気道反応群は各時点での個数は6匹で計24匹ずつであった。

7. BALF と肺組織の放射活性の測定

BALF は回収後直ちに1200 rpm で10分間遠沈し、細胞成分と上清成分とに分離した。回収した上清成分のうちの3ml、及び磷酸緩衝液1mlに再浮遊させた細胞成分をガンマカウンター (ARC 500, アロカ社) にて放射活性を測定した。なお、細胞成分では白血球数の算定、及び May-Giemsa 染色塗抹標本作製し、顕微鏡下に細胞分類を行なった。肺組織は BAL 終了後開胸して肺を摘出し、ガンマカウンター (ARC 2000, アロカ社) にて放射活性を測定した。さらに肺は空気で軽く膨らませた状態で10%ホルマリンに浸漬固定し、パラフィン包埋した後に Hematoxylin-eosin 染色 (HE 染色) を行ない鏡検した。

8. 放射活性値の補正

ガンマカウンターで得た値は半減期による放射活性の減衰を補正するため、次式を用いて出荷時の数値とした。

$$N_0 = N \times 2^{t/T}$$

[N_0 :最初の原子核数, N : t 時間後の原子核数, T :半減期 (^{125}I は60.2日)]また, 前述したガンマカウンターの2機種間で測定感度に差があるためこれについても補正を行なった。

9. ミクロオートラジオグラフィの作製

BALF 中細胞成分の塗抹標本と肺組織標本にミクロオートラジオグラフィを施行した。標本には前染色として塗抹標本には May-Giemsa 染色を行ない, 組織標本には HE 染色を行なった後封入した。かかる標本に, 蒸留水で3倍に希釈したオートラジオグラフィ用乳剤 (NTB 2, Kodak 社; USA) を dipping 法にて塗布し乾燥せしめ 4°C 24時間露出した。現像は developer D-19 (Kodak 社, USA) で行ない, 12%チオ硫酸ナトリウム溶液にて定着処理を行なった後に, 光学顕微鏡下に銀粒子の集積と細胞・組織形態を観察した。今回の方法では, 銀粒子面と標本面の間にカバーガラスが挟まれる形になるため, 焦点深度を変えることにより標本面の細胞形態が銀粒子により障害されることなく良好な状態で観察できた。

10. 統計学的検討

各実験結果は平均値±標準誤差 (SEM) で表し, その統計学的処理は Student's t-test で行ない, P value は0.05以下を有意差ありとした。

結 果

1. BALF 上清成分の検討

注入した標識抗原物質の動態を知るために, まず BALF 上清3ml中の ^{125}I -ascaris (または ^{125}I -OA) の放射活性を測定した。その結果, Fig. 2 に示す如く ^{125}I -ascaris および ^{125}I -OA の放射活性は IAR, LAR の有無による差はなく経時的に減少した。しかし, 非特異物質として用いた ^{125}I -OA は, IAR 後に ^{125}I -ascaris に比較すると有意に消失が促進していた ($P < 0.01$)。

2. BALF 中細胞成分による検討

1) BALF 単位容積当たりの放射活性

BALF 3ml中すなわち単位容積当たりの細胞成分の放射活性の検討では, 上清中の放射活性に比し Fig. 3 に示すごとく細胞内含量は10分の1程度であり, 上清成分と同様に経時的に徐々に

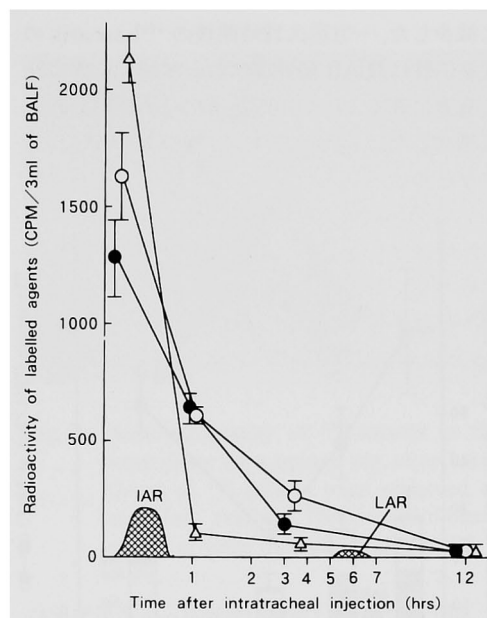


Fig. 2 Time course of radioactive ascaris and OA in the supernatant of BALF following intratracheal injection.

^{125}I -ascaris from asthmatic responders (●) and from non responders (○) and ^{125}I -OA from asthmatic responders (△) showed gradual decrease.

^{125}I -OA significantly decreased after IAR compared to ^{125}I -ascaris from asthmatic responders ($p < 0.05$) and that from non responders ($p < 0.01$).

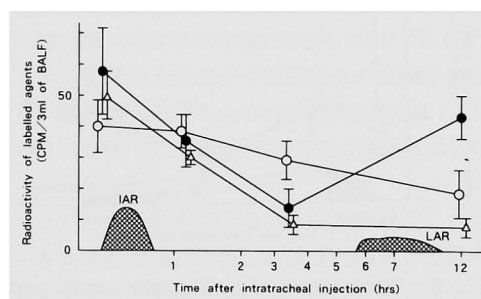


Fig. 3 Time course of radioactive ascaris and OA (△) in cell component of 3ml of BALF following intratracheal injection.

All injected substances gradually decreased, but ^{125}I -ascaris from asthmatic responders (●) significantly increased following LAR compared to that from non responders (○). ($p < 0.05$).

に減少した。一方注入12時間後の ^{125}I -ascaris の放射活性は、LAR 陽性群において無反応群に比し有意に高く ($P < 0.05$)、かつ LAR 前に比して増加した。

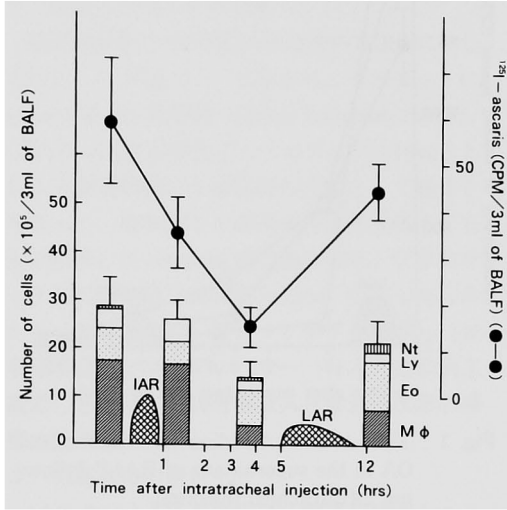


Fig. 4 Time course of ^{125}I -ascaris, cell number and cellular classification in 3ml of BALF of asthmatic responders. The radioactivity of ^{125}I -ascaris can be seen correlated to numbers of total cells and alveolar macrophages.

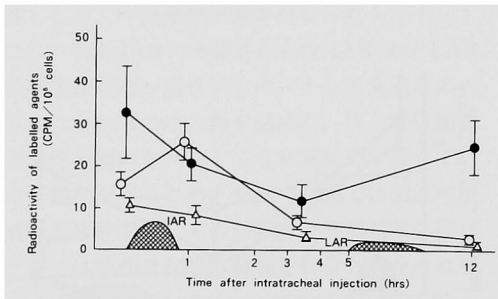


Fig. 5 Time course of radioactive ascaris and OA (Δ) in BAL cell (10^6 cells) following intratracheal injection.

Injected substances gradually decreased in all groups before LAR, but radioactivity of ^{125}I -ascaris from asthmatic responders (\bullet) increased after LAR. This value was significantly higher than that of ^{125}I -ascaris of the non responders (\circ). ($P < 0.05$).

かかる LAR 後の抗原物質の再増加を細胞数とその組成の要因から検討するために、単位容積当たりの BALF 中総細胞数および各細胞の実数を算定し、Fig. 3 で示した放射活性と比較した。その結果、Fig. 4 に示す如く気道反応群においては LAR 前までは減少傾向にあった総細胞数は LAR 後に ^{125}I -ascaris 放射活性とともに増加した。細胞組成の検討ではマクロファージ、好中球、好酸球が増加しており、特にマクロファージの実数は ^{125}I -ascaris と平行関係にあることが窺われた。

2) BALF 中単位細胞数当たりの放射活性
抗原物質の細胞内局在を明らかにするために、BALF 中の単位細胞数当たり、すなわち 10^6 個当たりの放射活性を検討した。その結果 Fig. 5 に示すごとく抗原注入後から 3.5 時間後までは ^{125}I -ascaris 投与気道反応群、無反応群、 ^{125}I -OA 群ともに減少傾向が認められたが、12 時間後の LAR 陽性群の ^{125}I -ascaris 放射活性は無反応群に比して単位細胞当たりで有意に高値であり ($P <$

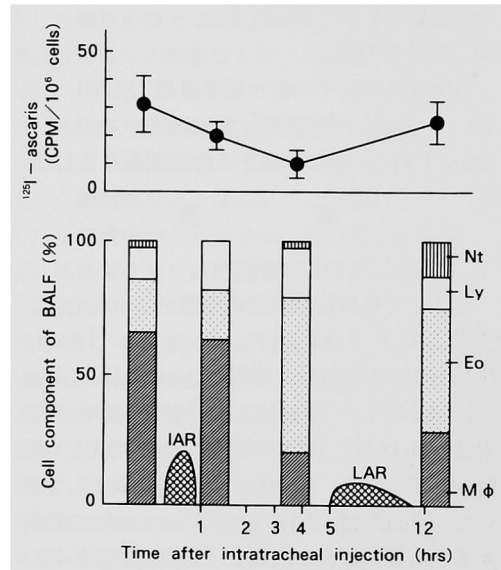


Fig. 6 Time course of ^{125}I -ascaris, cell number and cellular classification of BAL cell (10^6 cells) from asthmatic responder following intratracheal injection.

In the asthmatic responder, radioactivity of ^{125}I -ascaris can be seen correlated to the number of macrophages.

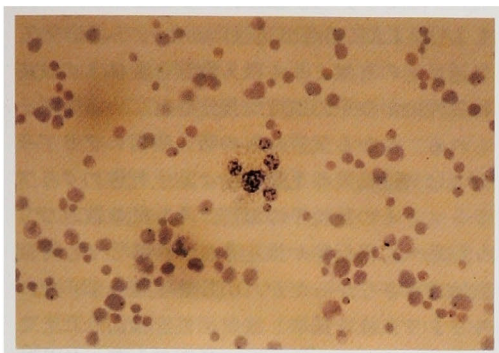


Fig. 7 Autoradiography of ^{125}I -ascaris in BAL cells from a guinea pig after LAR. Grain of ^{125}I -ascaris could be detected only in the cytoplasm of alveolar macrophages. May-Giemsa stain : original magnification : $\times 200$.

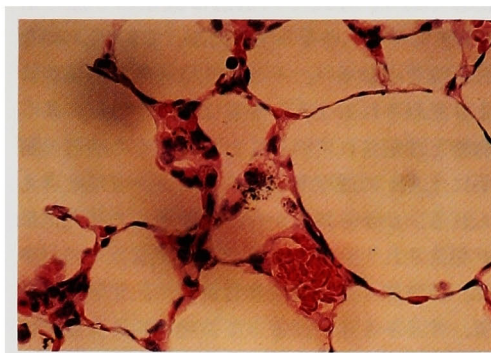


Fig. 9 Autoradiography of ^{125}I -ascaris in the lung tissue of a guinea pig after LAR. Grain of ^{125}I -ascaris were observed at alveolar region. Hematoxylin-eosin stain : original magnification : $\times 400$.

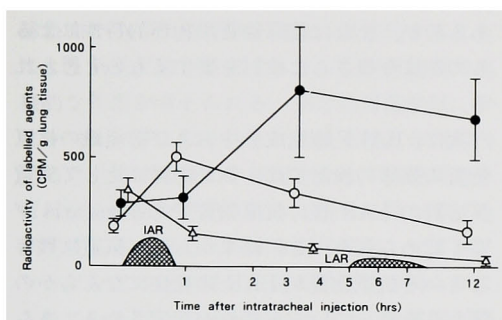


Fig. 8 Time course of radioactive ascaris and OA (Δ) in extracted lung tissue following intratracheal injection. ^{125}I -ascaris from asthmatic responders (\bullet) significantly increased after LAR compared to that from non responders (\circ). $p < 0.05$.

0.05), かつ LAR 前に比して増加した。

さらにこの抗原物質の再増加を細胞組成の要因より検討するため, BALF 中単位細胞当たりの放射活性の推移を BALF 中細胞比率と比較した (Fig. 6). その結果 LAR 後にマクロファージと好中球の比率が増加しており, LAR 後の抗原物質の増加はこれらの細胞が関与している事が想定された。

3) BALF 細胞中の注入抗原物質の局在
ascaris 抗原の肺内の局在を確認する目的で, BALF 細胞成分の塗抹標本を作製してオートラ

ジオグラフィーを行ない検討したところ, Fig. 7 のように主にマクロファージの胞体内に ^{125}I -ascaris 粒子の集積が認められた。

3. 肺組織による検討

1) 肺組織の単位重量当たりの放射活性

気道に注入した抗原物質が肺組織へ移行するかどうかを知るために, BAL 施行後に摘出した肺組織 1 g 当たりの放射活性を測定した。その結果, Fig. 8 に示すように無反応群における ^{125}I -ascaris と, 非特異物質である ^{125}I -OA は急速に肺組織から消失した。それに比して気道反応群では LAR 後に, 無反応群に比し ^{125}I -ascaris の肺組織への貯留が有意に増加した ($p < 0.05$)。しかも前述の上清成分や細胞成分の成績と異なり, 肺組織内の ^{125}I -ascaris の放射活性は LAR 時には IAR 時に比較しても有意に高値を示した ($p < 0.01$)。

2) 肺組織標本による注入抗原の局在

かかる肺組織に残留した抗原の局在を検討する目的で, 肺組織標本にオートラジオグラフィーを施行した。その結果, 肺泡や細気管支の末梢気道内, 及び間質では主に肺胞壁に存在するマクロファージに ^{125}I -ascaris の集積が認められた (Fig. 9)。

考 察

重症難治性喘息は臨床上解決の急がれている

疾患であり、またその病態は教室の一連の研究²⁾³⁾⁵⁾¹¹⁻¹³⁾からかなり明確になってきたものなお不明な点が多い。そこで抗原吸入誘発試験により惹起されるLARが重症難治性喘息の基本病態と想定されていることから、その病態の解明にLARの機序を検討することが有用と考えられる。かかる観点から、近年多くの研究成果が報告され²⁾⁴⁾⁵⁾、反応の場となる気管支への好中球、好酸球などの血液細胞浸潤や、化学伝達物質、サイトカインによって惹起される炎症反応の関与が重症であると考えられている。しかしまだその全容が解明されてはならず、特に何故ある一定の時間において気道反応が惹起されるかという疑問に対しては的確な推論、根拠はなく未解決のままである。かかる観点でのLAR時における抗原物質の動態に関しては詳細な検討は少ない。そこで著者はLARの発症における吸入抗原の関与を解明する目的で、動物喘息モデルを作成し標識抗原物質にて誘発試験を行ない、BALF及び肺組織における抗原の局在並びに動態を検討した。

その結果、BALF上清成分の検討ではIAR、LARの気道反応の有無に関わらず、また抗原物質であるascarisそして非特異物質であるOAの何れも速やかに気道より消失したが、IAR後にOAはascarisに比し有意に減少していた。BALF中細胞成分の標識抗原物質の放射活性の検討ではIAR時には無反応群との間に差はなかったがLAR時には高値であり、またLAR時にはIAR時に比しても増加傾向が認められた。しかし、非特異物質として用いた¹²⁵I-OAはIAR、LARに影響される事なく速やかに減少する傾向にあった。BALF中細胞比率と標識抗原物質の放射活性の比較検討では、標識抗原の増加していたLAR後には主にマクロファージや好中球が増加していた。BALF中の細胞及び組織の標本ではマクロファージに放射活性が確認された。

まずBALF上清成分及び肺組織の検討において、侵入した抗原物質は気道から速やかに排出された。特にIAR時には非特異物質であるOAは、特異抗原物質であるascarisに比してさらに速やかに気道から排出される事が判明した。このOAとascaris抗原の間にみられる気道外

へのクリアランスの差は、OA投与群においてもIAR、LARの各気道反応が生じているので、気道反応の有無よりも吸入物質と生体との反応特異性によりその速度が規定されていると考えられる。かかる気道からの吸入物質のクリアランスは気道粘膜線毛運動による上行性のクリアランスとその他粒子の溶解、そして血液及びリンパ系への移行等が推定されている¹³⁾⁻¹⁶⁾、今回数値は示さなかったが、BAL終了後一部のモルモットで血液を採取し放射活性を検討したところ、OA投与群はascaris抗原投与群に比し注入後早期に増加傾向が見られたがascaris抗原投与群では気道反応の有無では差がみられなかった。従ってOAはascaris抗原に比し、気道内に投与された後IARの時点では気道表面より血液中へ移行する比率が高いものと推察された。しかし、これが実際に感作など生体側の影響であるのか、または抗原物質の物理的特性によるものかは今後さらに検討を要するものと思われる。

次に、BALF細胞成分中および肺組織の抗原物質の推移の検討では、無反応群に比して気道反応群のLAR後に抗原物質であるascarisが多く認められた。この結果からは、気道に残存している抗原物質がLARの発症になんらかの関わりを持っている可能性が想定される。さらに非特異物質として用いたOAはLARに影響される事なく減少していることも、特異的抗原物質であるascarisとLAR発症との関連を示唆する成績と考えられる。

また、気道反応陽性群におけるBALF細胞成分中の抗原物質の推移と細胞組成の比較による検討では、抗原物質の増加したLAR後にはマクロファージ、好中球及び好酸球の増加がみられた。この結果から、まず気道内に再増加した抗原物質が、マクロファージや顆粒球系の炎症細胞の遊走及び活性化をもたらす事は容易に想定される。しかし、さらに岡田ら¹⁷⁾によりヒトの末梢血の検討で、LAR時に好塩基球表面に結合するIgG抗体が増加していること、また小栗栖¹³⁾によりLAR発症例のBALFの検討でIgGサブクラス抗体のうちIgG1の増加が明らかにされていることから、かかる再増加した抗原物

質が気道に集積した顆粒球を、その表面の IgG 1 受容体を介して刺激し活性化し喘息発作を惹起せしめる過程が考えられる。

次に BALF 細胞塗抹標本及び肺組織標本のオートラジオグラフィーでは主にマクロファージにおいて抗原物質が確認された。以上より、LAR での抗原物質の再増加には特にマクロファージの関与が示唆される結果であった。この気道内に残留した抗原物質とマクロファージが如何に気道反応と関連するかについては以下の2つの可能性が想定される。その第1は、マクロファージに一度取り込まれた抗原がそのままの形、あるいはごく一部に修飾を受けるなどして LAR の時点で放出される。かかる抗原物質が IAR と同様の機序で肥満細胞上での IgE 抗体の架橋形成を起こすことにより脱顆粒し、各種メディエーターが放出されるか、または先に述べた顆粒球表面の IgG 1 受容体を刺激、活性化することにより気道反応を惹起するという抗原物質の直接的な作用が考えられる。第2の可能性は、マクロファージに取り込まれた抗原物質が細胞内で処理を受けた後に T 細胞を介して気道反応を惹起する経路が想定される。後者に関しては近年免疫応答の開始における樹状細胞、マクロファージなどの抗原提示細胞の重要性が明らかにされている^{18)~21)}。それらによると、生体内に侵入した抗原物質はまず樹状細胞により捕捉処理され、主要適合性抗原 (MHC 抗原) とともに細胞表面に提示され T 細胞を感作する。次いでマクロファージや B 細胞などの抗原提示細胞が、抗原を細胞内に取り込みその分子の高次構造を解いたり分子を分解して免疫原性を露出した後に、細胞内で合成した MHC 抗原と共に細胞膜表面に表現し、T 細胞表面の抗原特異的 T 細胞レセプターに提示し²²⁾、活性化された T 細胞から各種リンフォカインが産出され免疫反応が始まるとされている。

今回の実験では LAR 時の気道内マクロファージに抗原物質が特異的に増加することが判明し、さらに前述した如くマクロファージが抗原提示能を有することや、また Holt ら²³⁾により気道の表面には MHC 抗原を多量に発現している樹状細胞がかなりの密度で存在することなど

が判明している。これらの免疫開始機構を気道反応の場に当てはめて考えると、まず気道反応の IAR については前述のごとく IgE-肥満細胞により説明される。それに対して LAR では気道内の抗原提示細胞により捕捉された抗原物質が LAR の時相で T 細胞を活性化することにより^{24~26)}、アレルギー反応が開始後さらに持続していく可能性が想定される。以上より気管支喘息の重症化機序において、気道内の抗原提示細胞により持続的に T 細胞が活性化され気道における炎症機転が継続している状態、つまり木村の提唱する細胞反応型アレルギー²⁷⁾として気管支喘息の重症難治化の要因となっている事が示唆された。

一方、LAR 時の抗原物質の再増加については、今回の実験結果からは気道内に進入した抗原物質が一度リンパ系または血液中など肺外に移送され、LAR の時点で再びマクロファージなどにより気道内に再現される可能性が考えられるが、この詳細な機序については今後さらに検討を要するものと思われる。

結 論

即時型のみならず遅発型気道反応の発症機序のうち、その反応の引金となる抗原の関与を解明する目的で、*ascaris* 抗原の腹腔内注射で感作したモルモットを含む76匹に対し、標識抗原物質を気管内に注入し経時的に BALF、肺組織の放射活性を測定し抗原の動態を検討した。

1. BALF中の細胞成分及び肺組織における標識抗原物質である ¹²⁵I-*ascaris* の放射活性は、LAR前には無反応群との間に差は認められなかった。しかし LAR 後では、同一時点の無反応群に対し平均値の比較では、単位容積当たりの BALF 細胞成分では約1.8倍、単位細胞数当たりの細胞成分では約5.8倍、肺組織では約2.7倍といずれも有意に高値を示し ($P < 0.05$)、また BALF 細胞成分では LAR 前に比しても増加傾向が認められた。

2. BALF 細胞成分中の標識抗原物質の推移は、BALF 中のマクロファージと平行関係にあることが窺われた。

3. 非特異物質として用いた ¹²⁵I-OA は IAR,

LARの発現に影響を受けず速やかに減少する傾向を示した。

4. BALF中の細胞及び組織の標本のオートラジオグラフィでは、主にマクロファージに標識抗原物質の放射活性が確認された。

以上より、LARの際に抗原物質はBALF細胞成分及び肺組織に増加しており、その局在は主にマクロファージに見られることにより、抗原物質はマクロファージなどによりLAR時に

気道内に再現され各種炎症細胞を介してLAR発現の要因になっていることが想定された。

稿を終えるにあたり、ご指導ならびに御校閲を賜りまた直接ご指導頂きました高橋 清元講師（現国立療養所南岡山病院副院長）に深謝致します。養所南岡山病院副院長）に深謝致します。

（本論文の要旨は、第41回日本アレルギー学会総会において発表した。）

文 献

- 1) Pepys J and Hutchcroft BJ : Bronchial provocation test in etiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am Rev Respir Dis* (1975) **112**, 829—859.
- 2) 木村郁郎：遅発アレルギーの発症機序 — 細胞反応を中心として —；第3回免疫薬理シンポジウム，富岡致夫編，デーエムペー ジャパン，東京（1985）pp 23—40.
- 3) 高橋 清：中高年発症型難治性喘息の機序；第4回免疫薬物療法研究会記録集，山本雄一編，医薬ジャーナル社，東京（1987）pp 110—130.
- 4) DeMonchy JGR, Kauffman HF, Venge P, Koter GH, Shuiter HJ, Lansen HM and Vries K : Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reaction. *Am Rev Respir Dis* (1985) **131**, 373—376.
- 5) 難波一弘，高橋 清，多田慎也，清水一紀，中藤研一，岡田千春，辻 光明，沖 和彦，谷崎勝朗：House Dustによる気管支喘息患者遅発型気道反応と発症機序に関する検討 — 気管支肺胞洗浄を中心に —。アレルギー（1988）**37**，67—74.
- 6) Nadel JA : Inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol* (1984) **73**, 651—653.
- 7) Kay AB : Eosinophils and Neutrophils ; Development of anti-asthma drugs, Buckle and Smith eds, Butterworths, London (1984) pp 89—106.
- 8) Ishizaka K and Ishizaka T : Identification of γ E-antibodies as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* (1967) **99**, 1187—1198.
- 9) Messina MS, O'Riordan TG and Smaldone GC : Changes in mucociliary clearance during acute exacerbations of asthma. *Am Rev Respir Dis* (1991) **143**, 993—997.
- 10) Iijima H, Ishii M, Yamauchi K, Shimura S, Inoue H, Mue S and Takishima T : Bronchoalveolar lavage and histologic characterization of late asthmatic response in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* (1987) **136**, 922—929.
- 11) 沖 和彦：気管支喘息の重症難治化要因に関する研究，第1編 遅発型気道反応モデルにおける抗原再吸入の影響。岡山医誌（1990）**102**，1187—1196.
- 12) 高橋 清，清水一紀，難波一弘，中山堅吾，岡田千春，辻 光明，中藤研一，多田慎也，木村郁郎，周藤真康，谷崎勝朗：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（1988）**37**，322—330.
- 13) 小栗栖和郎，高橋 清，宗田 良，荒木雅之，武田勝行，小塚明子，片木幸恵，山縣浩一，木村郁郎，谷崎勝朗：成人喘息におけるIgGサブクラス抗体に関する研究，第2報 気管支喘息重症難治化とIgG抗体に及ぼす加齢の影響について。アレルギー（1992）**41**，7—41.
- 14) 久保田善久：気道沈着の機構と分布 4 呼吸器沈着に及ぼす生体側の修飾要因。Natl Inst

- Radiol Sci (1991) **78**, 115—123.
- 15) Task group on lung dynamics : Deposition models for internal dosimetry of the human respiratory tract. Health Phys (1966) **12**, 173—207.
 - 16) Grandon L and Podgorski A : Kinetics of particle retention in the human respiratory tract. Ann Occup Hyg (1991) **35**, 249—259.
 - 17) 岡田千春, 高橋 清, 宗田 良, 松岡 孝, 難波一弘, 荒木洋行, 木村郁郎, 岸本卓巳 : 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 (1988) **37**, 5—11.
 - 18) Inaba K, Steinman RM : Resting and sensitized T lymphocytes exhibit distinct stimulatory (Antigen-presenting cell) requirements for growth and lymphokine release. J Exp Med (1984) **160**, 1717—1735.
 - 19) Austyn MJ : Antigen-Presenting Cells. IRL Press, Oxford (1989) pp 17—20.
 - 20) Rosenthal AS : Regulation of the immune response. Role of macrophage. N Engl J Med (1980) **303**, 1153—1156.
 - 21) Unanue ER : Antigen-presenting function of the macrophage. Annu Rev Immunol (1984) **2**, 395—428.
 - 22) Shimonkevitz R, Kappler J, Marrack P and Grey H : Antigen recognition by H-2 restricted T cells I. Cell-free antigen processing. J Exp Med (1983) **158**, 303—316.
 - 23) Holt PG, Schon-Hegard MA, Oliver J, Holt BJ and Mcmenamin PG : A contiguous network of dendritic antigen-presenting cells within the respiratory epithelium. Int Arch Allergy Appl Immunol (1990) **91**, 155—159.
 - 24) 宮川秀文, 難波一弘, 白石高昌, 名部 誠, 佐藤 恭, 武田 昌, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎 : 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. アレルギー (1988) **37**, 12—18.
 - 25) 武田 昌 : 気管支喘息におけるリンパ球機能に関する研究 第1編 気管支喘息におけるBAL液中ならびに末梢中リンパ球の吸入抗原に対する幼若化反応の検討. 岡山医誌 (1991) **103**, 387—409.
 - 26) 金廣有彦, 高橋 清, 多田慎也, 宗田 良, 猪木篤弘, 谷本 安, 木村五郎, 岡本章一, 岡野智治, 古藤直紀, 木村郁郎 : 気管支喘息患者の遅発型気道反応におけるリンパ球の関与について. アレルギー (1992) **41**, 739—748.
 - 27) 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 (1990) **19**, 12—16.

**On localization of inhaled antigens
in late asthmatic response in an animal model**

Katsuyuki TAKEDA

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

To clarify the initiation of late asthmatic response (LAR), the localization and fate of inhaled antigens were studied using an animal model of LAR. Guinea pigs were sensitized by *ascaris suum* and aluminum gel. Radioiodinated *ascaris suum* and ovalbumin as control were subsequently injected into the trachea of the guinea pig to determine the radioactivity of bronchoalveolar lavage (BAL) cells and fluid (BALF) components before and after LAR. The localization of antigens was also examined by autoradiography of BAL cells and lung tissue sections.

The radioactivity of radioiodinated *ascaris* in BAL cells and lung tissue increased during LAR with increases in macrophages and neutrophils, although in non-responding animals inhaled antigens gradually disappeared from the airway. The radioactivity of radioiodinated ovalbumin gradually decreased regardless of LAR. Autoradiographic study showed that the inhaled antigens were located in the cytoplasm of alveolar macrophages in BALF and lung tissue.

These data indicate that inhaled antigens may accumulate and migrate with numerous inflammatory cells such as macrophages and neutrophils in late phase bronchial response.