

気管支喘息の重症難治化要因に関する研究

第 1 編

喘息動物モデルによる遅発型気道反応の機序に関する検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

沖 和 彦

(平成 2 年 8 月 6 日受稿)

Key words : Actively sensitized model, Guinea pig, Late asthmatic response, BAL-cell, Leukotrienes

緒 言

石坂ら¹⁾による IgE の発見以来, 気管支喘息の発症機序は肥満細胞上の IgE レセプターに結合した IgE 抗体と抗原との抗原抗体反応, つまり, I 型アレルギー反応と考えられてきた。しかし, 気管支喘息患者に抗原吸入誘発試験を行うと, 即時型気道反応 (Immediate asthmatic response: 以下 IAR) だけでなく, 遅発型気道反応 (Late asthmatic response: 以下 LAR) も見られることがある。Pepys²⁾ は IAR が抗原吸入後約 10 分以内に始まり, 20~30 分でピークに達して 1~3 時間で消失する反応であり I 型アレルギー反応に基づくのに対し, LAR は抗原吸入後 4~6 時間で始まり, 8~12 時間でピークに達し, 24 時間で消失する反応であり I 型とか III 型反応あるいはその他の機序を想定している。かかる LAR の臨床像は IAR が発作的であるのに対して徐々に増悪し, 持続時間が長く, β 刺激剤があまり効果的でなくステロイドホルモンが有効であるなどの特徴は重症難治性喘息の発作と類似している。しかし, 重症喘息患者やその機序に共通性のあるヒト LAR における気道反応時の詳細な細胞反応等を検討することは困難なことが多い。かかる問題を解決する方法として動物モデルによる研究が必要と考えられる。

気管支喘息の動物モデルは, Patterson³⁾ の犬,

Swineford⁴⁾ のモルモットによる IAR のモデルが研究されているが, 近年 LAR を伴うモデルの作製が試みられている。1982 年 Shampain ら⁵⁾ により初めて兎の *Alternaria* 感作による LAR が作製され, 次いで, 1983 年 Abraham ら⁶⁾ によって, 羊の *Ascaris suum* 能動感作による LAR 動物モデルが作製されている。更に本邦でも, 1987 年飯島ら⁷⁾ により実験動物として比較的取扱が簡単であり気道の反応性が高いモルモットに *Ascaris suum* を用いて LAR モデルが作製された。著者らは更にそのモデルを一部改良して, 非発作群, IAR 及び LAR 群における末梢血並びに気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage Fluid: 以下 BALF) を用いた気道局所の細胞反応及び化学伝達物質としてのロイコトリエン (Leukotrienes: 以下 LTs) の定量, 及び組織反応を検討した結果, LAR の病態に関する若干の興味ある知見を得たので報告する。

対 象 と 方 法

対 象 :

対象には, 約 200 g の Hartley 系の雄モルモット 60 匹を使用して喘息動物モデルを作製した。モルモットは, 岡山大学医学部付属動物実験施設において, 感作開始前約 2 週間, 検疫・飼育を行った。なお, 飼育には固形飼料と水を用いた。

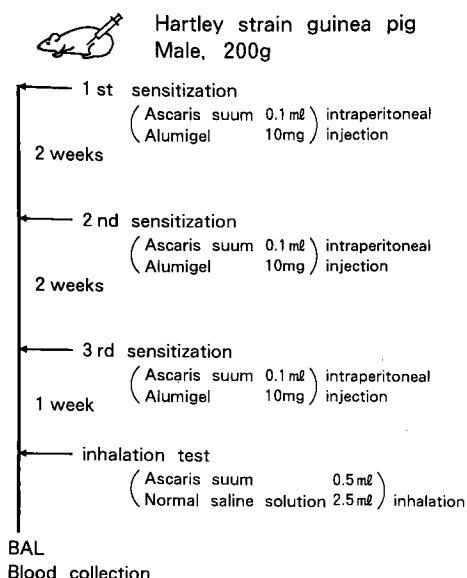


Fig. 1 Protocol of sensitization by ascaris suum in the experimental model of bronchial asthma using guinea pig.

実験装置：

モルモットの吸入誘発試験のために吸入箱を作製した。吸入箱は上部がふたで取り外しのできるプラスチック製の箱 (40×25×15cm) の一側に直径 2 cm の円形窓を開け、そこにネブライザーを装着した。また、他側に直径 5 mm の円形窓を 40 個開け、噴霧された抗原液の排気を行った。

全実験を通じて抗原の吸入は日商式吸入用ネブライザー (日本商事製) にコンプレッサー (日本共立医科工業製) を接続して行った。

モルモットの呼吸状態を観察するために、その呼気と吸気の経時的变化を小動物用呼吸ピックアップ (日本光電社製) を用いて測定した。モルモットの胸壁に呼吸ピックアップを取り付け、そのセンサーからの電気信号をアンプで増幅して記録した。吸入誘発前、吸入誘発後 6 時間まで 1 時間おきに呼吸曲線を記録した。

感作及び吸入誘発試験：

感作方法は、飯島ら⁷⁾ の変法で行った。すなわち、Ascaris suum 抗原 (Greer Laboratories 製, USA) 0.1 ml と水酸化アルミニウム (和光純

薬製) 10 mg に生理食塩水を加えて 1.0 ml とした抗原液を作製し、2 週間間隔で 3 回腹腔内注射をすることにより感作を行った。(Fig. 1)

抗原吸入誘発には抗原液として Ascaris suum 0.5 ml に生理食塩水を 2.5 ml 加えたものを作製し、日商式ネブライザーにコンプレッサーを接続して吸入を行った。吸入時間は 10 分間とし吸入終了後直ちに呼吸曲線を記録したが、吸入途中で強い即時型反応の生じたモルモットはその時点で吸入箱より取り出し呼吸曲線を記録した。

細胞成分の測定：

血液細胞組成の変化を静脈血と BALF について検討した。

まず静脈血については採血前に 50 mg/ml の sodium pentobarbital 0.5 ml/kg をモルモット腹腔内に注射して麻酔を行い、その後開腹して門脈より 12 ml 採血した。その一部で白血球数算定及び塗抹標本作製し、May-Giemsa 染色後鏡頭により白血球分類を行った。

次に BALF 中細胞の検討は、採血後モルモット頸部を開き、気管を露出してその周囲の軟部組織を剝離した。気管の一部に切開を加え、そこにプラスチック製のチューブを切開部より気管内に挿入して糸で結紮固定した。BAL は滅菌生理食塩水を用い、1 回 10 ml を 10 ml 用注射器で徐々に肺内に注入後回収した。計 5 回 BAL を行い、回収率、回収総細胞数の算定、及び、塗抹標本作製した。塗抹標本は May-Giemsa 染色後、細胞分類を行った。

血漿中及び BALF 中ロイコトリエン濃度の測定：

血漿中 LTs の定量は対照として非発作群 (吸入誘発後呼吸延長を認めなかったモルモット；control) 及び、IAR, LAR 時に採取した静脈血 10 ml を 50 ml 用遮光遠沈管にて氷冷したエタノール (和光純薬製高速液体クロマトグラフィー用 99.5%) 40 ml と混和した。30 分間遠沈後その上清を蒸発乾固し、10% アセトニトリル (和光純薬製) 5 ml に溶解した。SEP-PAK_{C18} カラム (Waters 製) を用いて処理後再び蒸発乾固し、50% アセトニトリル 0.5 ml を加えて溶解し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC: Waters Liquid Chromatograph Model 510) を用いて定量した。

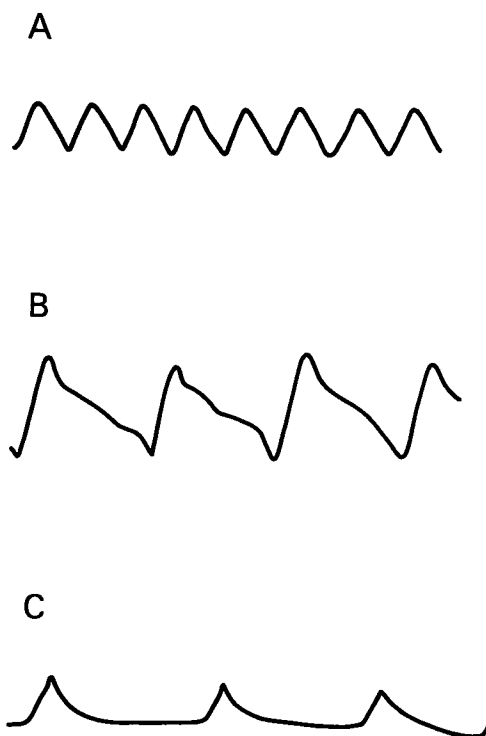


Fig. 2 Typical patterns of respiratory curve at (A) non-treated state as a control, (B) immediate and (C) late asthmatic response.

BALF 中 LTs の測定は採取した BALF のうち10mlを氷冷エタノール40mlと混和し、血液と同様に処理を行い定量した。

組織学的検討：

IAR や LAR 時及び control に50mg/mlの sodium pentobarbital 0.5ml/kgずつ腹腔内に注射して麻酔し、開胸後肺を摘出した。10%ホルマリン固定後パラフィン包埋し、Hematoxylin-eosin 染色を行い鏡顕した。

検 定：

結果の数値は全て Mean±SD で表し、検定には Wilcoxon 検定を用い、P value は $P < 0.05$ を推計学的に有意と判定した。

結 果

1. 呼吸曲線と各気道反応の評価について

吸入誘発前の典型的な呼吸曲線は Fig. 2 A に

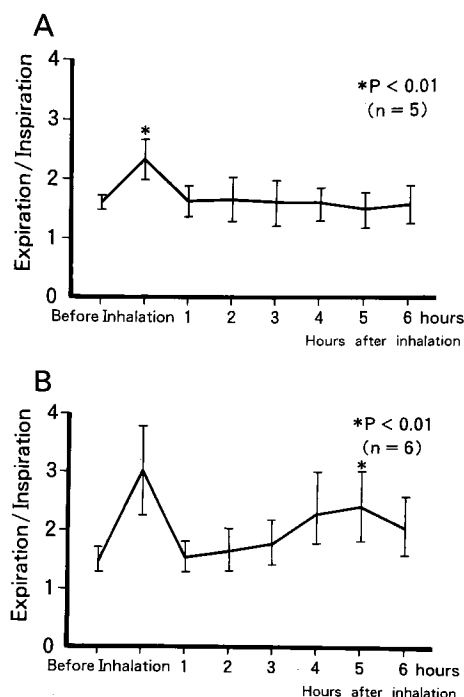


Fig. 3 Course of asthmatic attack evaluated by the ratio of expiratory to inspiratory time during immediate and late phase after inhalation of ascaris antigen. (A) : Five guinea pigs showed only IAR and (B) : six guinea pigs showed dual asthmatic response.

示すごとく、その呼気と吸気の比(E/I)は 1.45 ± 0.20 であった。

一方、発作時の呼吸曲線は抗原の吸入誘発後に明らかに発作を誘発している場合の呼吸曲線 (Fig. 2 B, C) で、E/I が2.0以上を示したことからそれ以上を発作と評価した。この評価法により IAR と判定されたモルモットの E/I は 2.75 ± 1.38 であり、その典型的呼吸パターンは Fig. 2 B である。また、Fig. 3 A のごとく吸入誘発前と比較し、吸入誘発直後にのみ見られる IAR 群の E/I は、 $P < 0.01$ の危険率で有意に高値であり、呼気の延長を示していた。一方吸入誘発1時間後から6時間後までの呼吸曲線の E/I は、2.0以下であり、呼気の延長は消失していた。

次に2相性気道反応 (Dual asthmatic

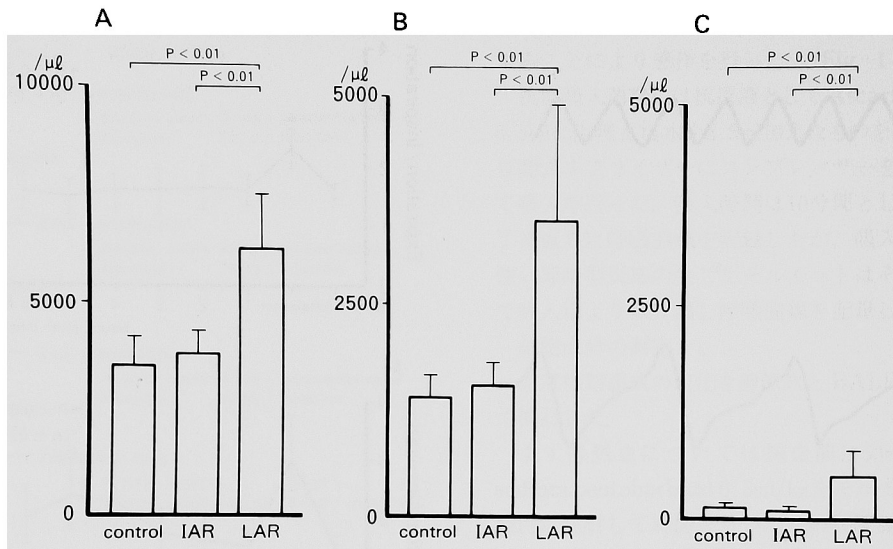


Fig. 4 Number of leukocytes (A), neutrophils (B) and eosinophils (C) of venous blood at non-attack state as a control (n=7), IAR (n=6) and LAR (n=12).

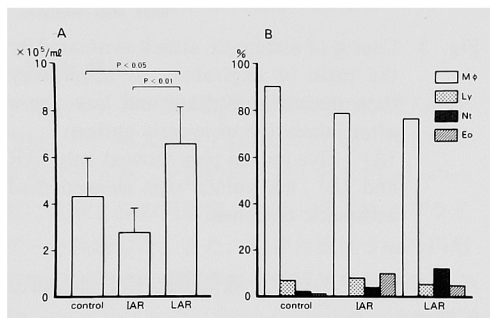


Fig. 5 Number of total cells (A) and cellular contents (B) in BALF at control (n=7), IAR (n=6) and LAR (n=12).

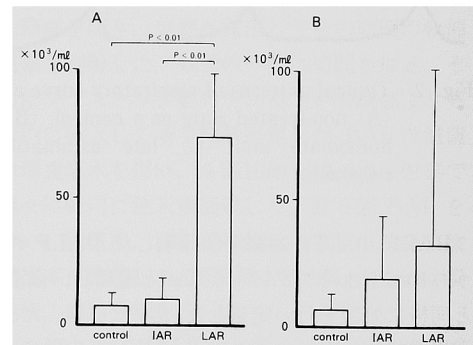


Fig. 6 Number of neutrophils (A) and eosinophils (B) in BALF at control (n=7), IAR (n=6) and LAR (n=12).

response: 以下 DAR 群の呼吸曲線は, Fig. 3 B に示すごとく抗原吸入誘発後の IAR が一旦回復した後 4 時間目以降において E/I が 2.0 以上を呈し, その典型的呼吸パターンは Fig. 2 C のごとくであった。吸入誘発 5 時間後には E/I が 2.48 ± 0.89 となり, 吸入誘発前と比較して $P < 0.01$ の危険率で有意に高値であり, 呼吸の延長を示していた。

なお, かかる IAR と LAR の出現率は, 60 匹中 IAR のみ示したものが 18 匹 (30%), LAR のみ示したものはなく DAR を示したものが 22

匹 (36.7%), 発作を起こさなかったものが 20 匹 (33.3%) であった。

2. 血液細胞組成の変化について

まず静脈血中白血球数の変化について検討したところ, control の白血球数は $3557 \pm 695/\mu\text{l}$ で, IAR は $3833 \pm 647/\mu\text{l}$, LAR は $6325 \pm 1361/\mu\text{l}$ であった。すなわち LAR は control, IAR に比較し, 有意に増加傾向を示した ($P < 0.01$) (Fig. 4 A)

次に白血球分画中の好中球については, control

では $1405 \pm 283/\mu\text{l}$, IAR では $1548 \pm 252/\mu\text{l}$, LAR では $3568 \pm 1569/\mu\text{l}$ であり, LAR は control, IAR に比較し, 有意に高値を示し ($P < 0.01$), IAR の時期にはあまり変動の見られない好中球が, LAR の時期には増加した. (Fig. 4 B) また, 好酸球についても control では $96 \pm 59/\mu\text{l}$, IAR では $76 \pm 62/\mu\text{l}$, LAR では $414 \pm 298/\mu\text{l}$ であり, LAR は control と IAR に比較し, 有意に高値を示し ($P < 0.01$), 好中球と同様 LAR の時期に増加した. (Fig. 4 C)

次に BALF 中の細胞組成について検討したところ, まず回収した BALF 中の 1 ml 当りの細胞数は control では $4.32 \pm 1.60 \times 10^5/\text{ml}$, IAR では $2.81 \pm 1.09 \times 10^5/\text{ml}$, LAR では $6.65 \pm 1.64 \times 10^5/\text{ml}$ であった. LAR は control ($P < 0.05$) や IAR ($P < 0.01$) に比較し, 有意に高値を示しており, LAR の際に回収細胞数の増加が見られた. (Fig. 5 A)

次に BALF 中の全細胞組成をその平均値で検討したところ, Fig. 5 B のごとくであった. そのうち好中球数は Fig. 6 A に示すごとく control では $8.20 \pm 5.62 \times 10^3/\text{ml}$, IAR では $11.5 \pm 8.07 \times 10^3/\text{ml}$, LAR では $75.9 \pm 26.6 \times 10^3/\text{ml}$ で

あり, LAR では control や IAR に比し有意に高値を示し ($P < 0.01$), LAR の場に好中球の増加が認められた. また, 好酸球数を検討したところ, control では $7.14 \pm 6.0 \times 10^3/\text{ml}$, IAR では $18.98 \pm 26.0 \times 10^3/\text{ml}$, LAR では $32.1 \pm 69.4 \times 10^3/\text{ml}$ であり, LAR で増加する傾向は見られたが有意差は認められなかった. (Fig. 6 B)

3. ロイコトリエン濃度の変化について

まず control, IAR, LAR の各群における静脈血中の LTC 4, LTB 4 を測定したところ, control の LTC 4 は $0.756 \pm 2.26 \text{ ng/ml}$, LTB 4 は測定限界以下であった. 一方 IAR の LTC 4 は $7.81 \pm 7.74 \text{ ng/ml}$, LTB 4 は $2.57 \pm 1.86 \text{ ng/ml}$ であり, LAR の LTC 4 は $1.08 \pm 1.31 \text{ ng/ml}$, LTB 4 は $1.43 \pm 1.99 \text{ ng/ml}$ であった. すなわち IAR の LTC 4, LTB 4 は control に比し有意に高値を示した. ($P < 0.01$) (Fig. 7 A, B)

また, 各時期の BALF 中のロイコトリエンを測定したところ, control の LTC 4 は $0.52 \pm 1.56 \text{ ng/ml}$, LTB 4 は $0.03 \pm 0.1 \text{ ng/ml}$ であったが, IAR の LTC 4 は $3.53 \pm 4.71 \text{ ng/ml}$, LTB 4 は $2.43 \pm 4.44 \text{ ng/ml}$ であり, LAR の LTC 4 は $1.42 \pm 1.22 \text{ ng/ml}$, LTB 4 は $3.67 \pm 7.78 \text{ ng/ml}$ と

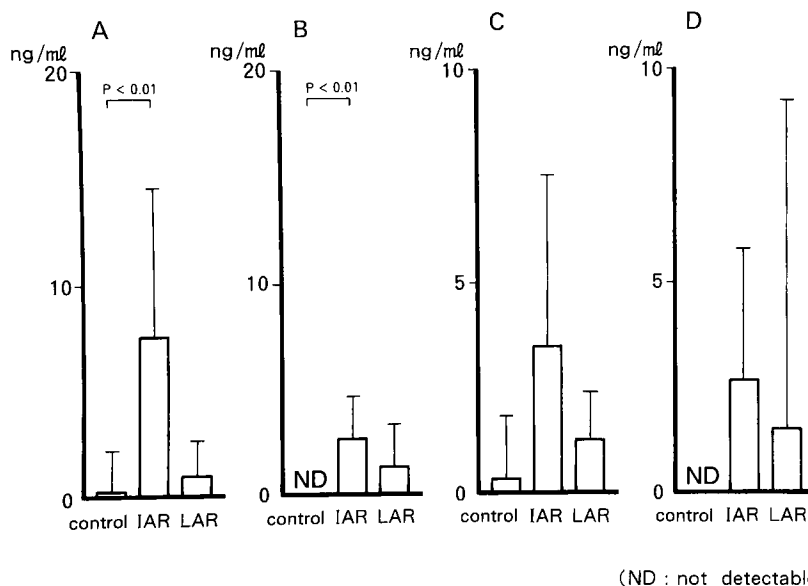


Fig. 7 LTC 4 levels (A) and LTB 4 levels (B) in venous blood, and LTC 4 levels (C) and LTB 4 levels (D) in BALF at control ($n = 9$), IAR ($n = 6$) and LAR ($n = 6$).

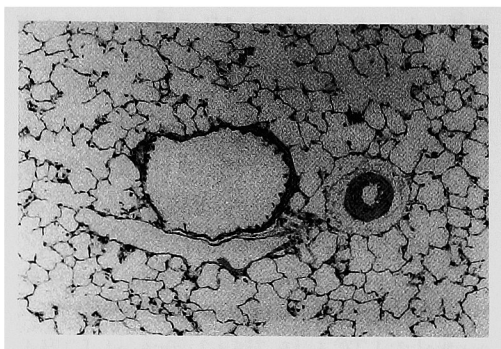


Fig. 8 Histological finding of small bronchus in non-attack state of guinea pig as a control. ($\times 400$)

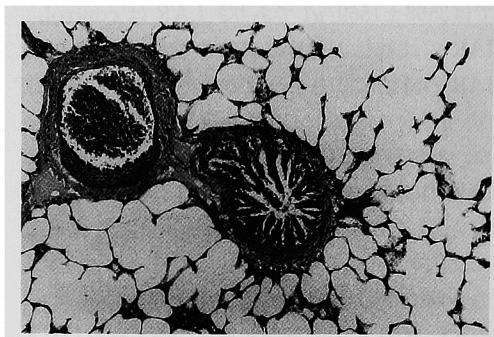


Fig. 9 Histological finding of small bronchus associated with bronchoconstriction at IAR in guinea pig. A few cells infiltrate around the bronchus. ($\times 400$)

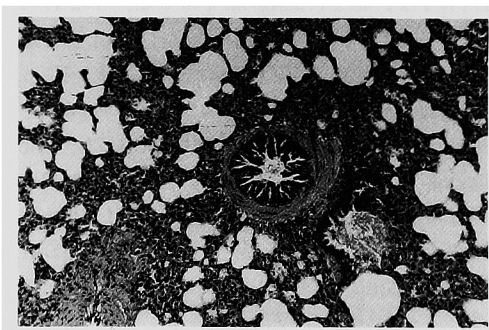


Fig. 10 Histological finding of small bronchus associated with bronchoconstriction at LAR in guinea pig. Numerous eosinophils infiltrate into the submucosal and peribronchial area. ($\times 400$)

各群間に有意差はみられなかった。(Fig. 7 C, D)

4. 組織学的検討

各時期における気道の変化は、全般的にIAR, LARともcontrolに比較して気道収縮像が見られた。気道周囲への細胞浸潤を比較してみると、LARではcontrol (Fig. 8), IAR (Fig. 9)に比してFig. 10のごとく気管支周囲への好酸球、単核球浸潤が著明であった。そこで組織における好酸球浸潤の程度を評価するために、気管支平滑筋周囲の好酸球数を算定し気管支1つ当りの平均値で比較したところ、LAR>IAR>controlの順であり、かつ各群間で推計学的に有意差が認められた。(P<0.01) (Fig. 11)

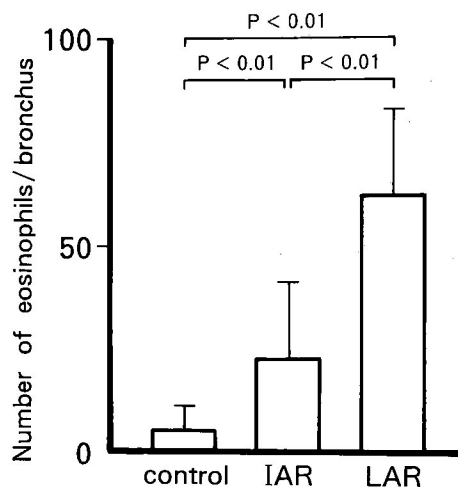


Fig. 11 Number of eosinophils infiltrated around the small bronchus at control (n=20), IAR (n=20) and LAR (n=20).

考 察

LARの病態は、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による炎症反応の関与が重要であることが一連の研究⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾で明らかにされつつあるが、まだその全容が解明されたわけでもない。教室の木村ら¹⁰⁾、高橋¹¹⁾は、重症難治性喘息とLARの病態は長時間続く喘息反応とステロイドホルモンが効果的である点で類似した機序を持っていると考え、ヒト

LAR 時の血液, BALF におけるアレルギー反応の検討を進めている。著者は, かかる LAR の詳細な検討のため, 本編では動物モデルの血液中及び気道反応局所的好中球と好酸球を中心に, 細胞組織反応及び化学伝達物質, 特に強い気道収縮作用を持つ LTC 4¹²⁾¹³⁾ と炎症細胞遊走因子としての LTB 4¹⁴⁾¹⁵⁾ について検討した。その結果, control, IAR 群では静脈血中好中球, 好酸球の増加は見られず, また BALF 中にも両細胞の増加は見られなかった。一方, LAR 群では静脈血中好中球, 好酸球の増加, BALF 中に好中球, 組織には好酸球が増加し, LAR と両炎症細胞の関連性を示唆する所見が得られた。しかし, LTs については, LTC 4 が IAR 群で静脈血, BALF 中ともに増加しており, 静脈血, BALF 中の好中球, 好酸球数の所見とは解離していたが, これは, 好塩基球, 肥満細胞等好中球, 好酸球以外の細胞からの LTs 産生を反映していることも考えられた¹⁶⁾。LTB 4 については特に LAR の BALF 中で増加しており, BALF 中に増加した好中球が LTB 4 を産生し, その LTB 4 が組織へ好酸球を遊走させたと考えられた。

Abraham ら⁹⁾ は, *Ascaris suum* を用いた羊の LAR の検討において, BALF に好中球, 好酸球の有意な増加が見られ, 組織で単核細胞浸潤が見られたと報告している。また, 岡山ら¹⁷⁾ は同じモデルの BALF 中の LTC 4 と LTB 4 を測定し, それぞれ LAR で増加したと報告している。モルモットにおいて, 飯島ら⁷⁾ は, LAR で, BALF 中好中球の増加と組織の好酸球増加を報告しており, また, Wieslander ら¹⁸⁾ は, モルモットに卵白アルブミンで感作した LAR モデルを作製し, その組織学的特徴は, 細気管支への好酸球浸潤と 6 時間後, 20 時間後に BALF 中への好酸球浸潤であると報告している。このように動物モデルにおける LAR においては炎症細胞の関与していることが想定され, 著者の成績もそれを支持するものであった。しかし, 湯川ら¹⁹⁾ は, 気道への好酸球などの炎症細胞浸潤のみでは LAR は発症せず, LAR の発症にさらに好中球等他の因子の関与を示唆している。

LAR の発症機序は, 遊出した好中球が産生す

る LTC 4²⁰⁾ に加え, 同時に放出される LTB 4 によって集積した好酸球が LTC 4 などの化学伝達物質を放出することによって気管支収縮が惹起されるものと考えられる。この反応を IAR に引き続いた反応とするのか, それとも IAR とは別の機序で惹起されるかは今だ一定の見解に至っておらず, さらに好中球の肺局所における他の役割とか抗体系の検討などに待たねばならないと考えられる。

なお, 抗体系という観点では, Shampain ら⁹⁾ の *Alternaria tenius* を用いたモデルで, IgE 抗体が LAR をおこし, むしろ IgG は抑制的に働くとし, I 型アレルギーの関与を示唆しているが, Ishii ら²¹⁾ はダニを用いて感作を行い, メトピロン処理を行ったモルモットの場合, LAR の発症には IgE 以外の因子の関与があることを報告している。また, モルモットの IgG には IgG 1, IgG 2 のサブクラスがあり, 気道収縮に働く IgE, IgG 1, さらに IgG 2 が LAR とどのように関連しているかが今後の検討²²⁾²³⁾ 課題と考えられる。従って今後は, 好塩基球, 肥満細胞, マクロファージ, リンパ球等細胞相互間の関連性とそれらを結ぶ抗原抗体反応系などを踏まえた広範な検討が必要と考えられた。

結 論

気管支喘息の重症難治化に関与すると思われる LAR の機序を解明する目的で, 動物モデルを作製し, その末梢血と BALF, 組織に現れた好中球, 好酸球数と末梢血, BALF 中の LTs の測定を行った結果, 以下の成績を得た。

1. control, 及び, IAR 群に比較して LAR 群に静脈血中白血球数の増加 ($P < 0.01$), 特に好中球数 ($P < 0.01$) と好酸球数 ($P < 0.01$) が有意に増加していた。

2. BALF 中出現細胞は, control, 及び, IAR 群に比較して, LAR 群において好中球の著増が見られ ($P < 0.01$), また組織では, 好酸球の気管支周囲への浸潤が認められた。 ($P < 0.01$)

3. IAR 群では静脈血中, 及び, BALF 中の LTC 4 が control に比し高値を示し ($P < 0.01$), LAR においては BALF 中の LTB 4 の高値を示す例が見られた。

以上より, LAR の発症には気道腔内へ遊出した好中球と気管支周囲へ浸潤した好酸球, ならびに気道収縮物質として LTs の関与が想定された。

稿を終えるにあたり御指導, 御校閲を賜りました

恩師木村郁郎教授に深謝するとともに, 終始懇切な御指導と助言を頂きました高橋 清講師に深謝いたします。

尚, 本論文の要旨は, 第37回日本アレルギー学会総会(昭和62年10月7日), 第28回日本胸部疾患学会総会(昭和63年4月26日)において発表した。

文 献

- 1) Ishizaka K and Ishizaka T : Identification of γ E-antibodies as a carrier of reaginic activity. *J Immunol* (1967) **99**, 1187—1198.
- 2) Pepys J and Hutchcroft BJ : Bronchial provocation test in etiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am Rev Respir Dis* (1975) **112**, 829—859.
- 3) Patterson R : Studies of spontaneous hypersensitivity in the dog. *J Allergy* (1960) **31**, 351—363.
- 4) Swineford O : Active sensitization of guinea pigs by inhalation of aerosols of antigen. *Ann Allergy* (1968) **26**, 28—32.
- 5) Champain MP, Behrens BL, Larsen GL and Henson PM : An animal model of late pulmonary response to *Alternaria* challenge. *Am Rev Respir Dis* (1982) **126**, 493—489.
- 6) Abraham WH, Delehunt JC, Yerger I and Marchette B : Characterization of a late phase pulmonary response following antigen challenge in allergic sheep. *Am Rev Respir Dis* (1983) **128**, 839—844.
- 7) Iijima H, Ishii M, Yamauchi K, Chao C-L, Kimura K, Shimura S, Shindoh Y, 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.
- 8) Nadel JA : Inflammation and asthma. *J Allergy Clin Immunol* (1984) **73**, 651—653.
- 9) DeMonchy JGR, Kauffman HF, Venge P, Koter GH, Shuiter HJ, Lansen HM and deVriesk : Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reaction. *Am Rev Respir Dis* (1985) **131**, 373—376.
- 10) 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, 富岡玖夫編, デーエムベージャパン, (1985) pp 23—40.
- 11) 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, 山村雄一編, 医薬ジャーナル社, 東京 (1987) pp110—130.
- 12) Weiss JW, Drazen JM, McFadden ER, Coles JM, Weller P, Corey EJ, Lewis RJ and Austen KF : Bronchoconstrictor effects of leukotriene C in human. *Science* (1982) **216**, 196—198.
- 13) 石原陽子, 北村 諭 : モルモット摘出気管切片における Leukotriene C₄, D₄ の作用について. *日胸疾患誌* (1982) **20**, 391—397.
- 14) Smith MJ, Ford-Hutchinson AW and Bray MA : Leukotriene B : a potential mediator of inflammation. *J Pharm Pharmacol* (1980) **32**, 517—518.
- 15) Bray MA, Ford-Hutchinson AW and Smith MJ : Leukotriene B₄ : An inflammatory mediator in vivo. *Prostaglandins* (1981) **22**, 213—222.
- 16) 腰原康子 : LT 産生細胞 : ロイコトリエンと病態, 室田誠逸, 富岡玖夫編, 医学書院, 東京 (1987) pp 25—30.
- 17) Okayama H, Aikawa T, Ohtsu H, Sasaki H and Takishima T : Leukotriene C₄ and B₄ in Bronchoalveolar Lavage Fluid during Biphasic Allergic Broncho-constriction in sheep. *Am Rev*

- Respir Dis (1989) **139**, 725—731.
- 18) Wieslander E, Andersson P, Linden M, Axelsson B, Kallstrom L, Brattsand R and Paulsson I : Importance of particulate antigen for the induction of dual bronchial reaction in guinea pigs. *Agents Actions* (1985) **16**, 37—38.
 - 19) 湯川龍雄, 寺師義典, 福田 健, 牧野莊平, 細野克彦, 副島和彦 : モルモット気道アレルギーにおける組織学的検討 I. 同種抗体受身感作モデルにおける単回抗原暴露後の好酸球浸潤と気道形態変化. *アレルギー* (1987) **36**, 227—237.
 - 20) 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.
 - 21) Ishii A, Ito K, Ino Y and Miyamoto T : Experimental Asthma in Guinea Pigs Sensitized with Mites (*Dermatophagoides farinae*). *Int Arch Allergy Appl Immunol.* (1989) **89**, 400—403.
 - 22) 伊藤幸治 : 実験喘息. *臨免疫* (1985) **17**, 138—148.
 - 23) Yamauchi N, Ito K, Suko M, Ishii A and Miyamoto T : IgG2 antibodies block IgE antibody-induced asthma in guinea pigs. *Int Arch Allergy* (1986) **80**, 76—80.

**Studies on intractable factors
in bronchial asthma
Part 1. Mechanisms of the late asthmatic
response in an animal model**

Kazuhiko OKI

**Second Department of Internal Medicine,
Okayama University Medical School,
Okayama 700, Japan
(Director : Prof. I. Kimura)**

In order to investigate in detail the mechanism of late asthmatic responses (LAR) which seem to be involved in the development of intractable asthma, we prepared an experimental model of bronchial asthma using guinea pigs and examined neutrophil, eosinophil, and leukotriene (LTs) levels in venous blood and bronchoalveolar lavage fluid (BALF).

Our results suggest that leukocytosis, and especially neutrophilia and eosinophilia is found in venous blood more with LAR than in IAR and non-attack states in control animals ($P < 0.01$).

Moreover, increased neutrophils were found in BALF in LAR compared with IAR and controls ($P < 0.01$) and marked eosinophil infiltration was observed in the peribronchial tissue in LAR compared with IAR and control ($P < 0.01$).

Finally LTC₄ levels were high in the venous blood and BALF in IAR, and LTB₄ levels were also high in BALF in LAR.

The data suggests that the accumulation of neutrophils and eosinophils in peribronchial areas and release of leukotrienes in BALF play important roles in the etiology of LAR.