The Role of Thromboxane A2, Leukotrienes and PAF in Immeditate Asthmatic Response and Their Interactions in Guinea Pig Airway

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2017-10-04
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者:
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8385

金沢大学十全医学会雑誌　第101巻　第4号　730－739 (1992)

モルモット即時型喘息反応におけるトロンボキサンA_2，ロイコトリエンおよび血小板活性化因子の関与と相互作用

金沢大学医学部内科学第三講座（主任：松田　保教授）
斉　藤　元　泰

（平成4年7月9日受付）

アラキドン酸代謝産物を中心とした脂質化学伝達物質が気管支喘息の病態ならびに気道過敏性の形成に重要な役割を果していることは良く知られている．近年それらの化学伝達物質に対する特異的拮抗剤や合成阻害剤の開発が進むにつれ，それらの抗喘息作用が検討されつつあるが、それらの抑制効果の単純和は100％をはるかに超える．その理由はそれらの間に何らかの相互作用が存在する為であると考えられる．今回，気管支喘息における代表的な三つの化学伝達物質であるトロンボキサン A_2 (thromboxane A_2, TXA_2)，ロイコトリエン C_4 (leukotrine C_4, LTC_4) および血小板活性化因子 (platelet activating factor, PAF) とそれぞれの特異的受容体拮抗剤である S-1452, AS-35 および Y-24180 を用いて，各化学伝達物質の即時型喘息反応 (immediate asthmatic response, IAR) における役割と相互作用を検討した．血液細胞および血管内皮細胞等の血管系の影響を除外するために各伝達物質はすべて吸入投与とした．S-1452, AS-35 および Y-24180 はそれぞれ，安定型トロンボキサン A_2 (stable thromboxane A_2, STA_2), LTC_4 および PAF 吸入誘発気道収縮を有意に用量依存性に抑制し，それぞれの拮抗剤としての性質が確認された．受動感作モルモットにおける IAR に対しては，S-1452 と AS-35 は有意な抑制効果を示し，TXA_2 および LTs の IAR に果たす重要性を示唆したが，Y-24180 は抑制効果を示さず，PAF は IAR に関与していないことが示唆された．各受容体拮抗剤により前処置されたモルモットに対する各種化学伝達物質吸入誘発気道収縮においては，S-1452 は PAF および LTC4 吸入誘発気道収縮に対して用量依存性に有意な抑制効果を示し，PAF や LTs の作用は二次的な TXA_2 の産生を介していることが示唆された．しかし Y-24180 は STA_2 および LTC_4 吸入誘発気道収縮を抑制せず，また AS-35 は STA_2 および PAF 吸入誘発気道収縮を抑制しなかった．即ち，TXA_2 は二次的に PAF や LTs を産生することはなく，また PAF と LTs の間には相互作用は存在しないことが示唆された．以上の結果は気管支喘息の病態における TXA_2 の重要性を示唆するものである．

Key words　interaction, PAF, leukotriene, thromboxane A2, guinea pigs

気管支喘息の病態には種々の化学伝達物質の関与が重要であることが知られている．化学伝達物質の中にはヒスタミンに代表される，あらかじめ産生され細胞内に貯蔵されているものと種々の刺激に応じて細胞内で産生されるものが存在する．新たに産生される化学伝達物質のなかでも生体膜成分である燐脂質から産生されるアラキドン酸代謝産物を中心とする脂質化学伝達物質の役割については，近年特異的拮抗剤の開発が進むに従いその重要性が明らかになりつつある．しかしそれぞれの化学伝達物質の間の相互作用については依然不明の点が多い．それぞれの化学伝達物質に対する拮抗剤は強力な抗喘息作用を有し，それらの抑制効果の単純和は100％をはるかに超える．その理由はそれぞれの化学伝達物質は独立して働いているのではなく，一つの物質がそれ自身あるいは他の物質を誘導するというフィードバック機構が存在するためと考えられる．そこで今回即時型喘息反応において重要な役割を果たしていると考えられる脂質化学伝達物質であるトロンボキサン A_2 (thromboxane A_2, TXA_2)，ロイコトリエン (leukotriene, LT)，血小板活性化因子 (platelet activating factor, PAF) の間の相互作用について検討した．

対象および方法

Ⅰ．実験動物

400～500g のハートレー系雄モルモット（三協ラボ，東京）を購入し，金沢大学動物実験施設内の空調飼育室（室温23±2℃，湿度55±5％）で1週間以上飼育し，肉眼的観察により健常と判断した動物を実験に使用した．

Ⅱ．実験装置および測定項目

即報の実験装置および方法を用いて行った[1]（図1）．即ち，ネンブタール 75mg/kg の腹腔内投与によってモルモットを麻酔した後，胸骨上縁より1横指頭側で気管切開を行って気管カ

Abbreviations: CFA, complete Freund's adjuvant; IAR, immediate asthmatic response; LTC_4, leukotriene C_4; OA, ovalbumin; Pao, pressure at the airway opening; PAF, platelet activating factor; PCA, passive cutaneous anaphylaxis; PGD_2, E_2, H_2, I_2, prostaglandin D_2, E_2, H_2, I_2; STA_2, stable thromboxane A_2; TXA_2, thromboxane A_2

ニューレを装着し，小動物用従量式レスピレーター(Model-1680, Harvard Co. Inc., South Natick, U.S.A.) にて陽圧呼吸を行った．気管カニューレはポリエチレン製で外径 2.5mm，内径2.1mm である．一回換気量は 10ml/kg，換気数は毎分60回とした[2]．気管支収縮反応の指標として気管カニューレの側圧 (Pressure at the airway opening, Pao) を差圧トランスデューサー (TP-603T，日本光電社，東京) を用いて測定した．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[1]．気道反応は抗原および各化学伝達物質吸入直前の Pao 値を基準値として，この基準値に対する増加率として表した．薬物の吸入投与は，南ら[2]が開発した小動物用吸入負荷装置を用いて呼吸状態を変化させることなく安静換気で30秒間吸入することにより行った．薬物の腹腔内投与は著者らが開発した腹腔内投与器を用いて確実に定量的に投与した．

Ⅲ．モルモットの抗卵白アルブミン血清（抗 ovalbumin (OA) 血清）

Santives ら[3]の方法に従って抗 OA 血清を作成した．即ち総量 500μg の OA を完全フロインドアジュバントにてエマルジョンの状態にし，モルモットの両側鼠径部，両側腋窩部，項部の5箇所に分け皮内注射した．2週間後同様の処置によりブースターを行った．さらに2週間後採血し，血清を分離し，同一容器に集めて均一化した後，小スピッツに分注して−20℃で凍結保存した．作成した抗 OA 血清の4時間，24時間および7日間の受身皮膚アナフィラキシー反応による抗体価 (passive cutaneous anaphylaxis titer, PCA titer) は各々12800倍，6400倍および512倍であった．

Ⅳ．トロンボキサン A_2 受容体拮抗剤 (S-1452) の各種気道収縮物質に対する効果

1．安定型トロンボキサン A_2 (stable thromboxane A_2, STA_2) 吸入誘発気道収縮に対する効果

S-1452 は生理食塩水を溶媒とし，0.01および0.033mg/ml の溶液を作成した．溶媒 (n=6) または各濃度 (0.01mg/ml: n=6, 0.033mg/ml: n=6) の S-1452 を30秒間吸入投与した10分後より，生理食塩水に溶解し，0.1, 0.33および1.0μg/ml の濃度に調整した STA2 を，上述の小動物用吸入負荷装置を用いて低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

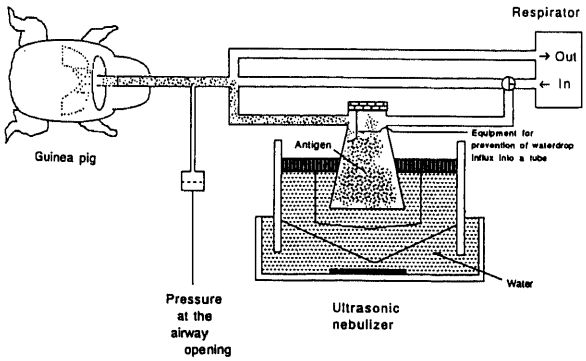

Fig. 1. Design of the experimental system. An anesthetized guinea pig was placed in a supine position and the trachea was cannulated with polyethylene. The animal was artificially ventilated by a small animal ventilator and nebulized with ovalbumin, antagonists or bronchoconstricting agents. Pressure at the airway opening (Pao) was continuously recorded to estimate the overall bronchoconstriction by an X-Y recorder.

2．抗原吸入誘発気道収縮に対する効果

抗 OA 血清の1.0ml/kg を実験開始24〜48時間前にモルモットに腹腔内投与した．実験当日ヒスタミンによるアナフィラキシー反応を完全に抑制する目的で，抗ヒスタミン剤としてジフェンヒドラミン 60mg/kg の腹腔内投与を抗原吸入の15分前に行った[1]．S-1452 は Ⅳ.1. の実験と同様生理食塩水を溶媒とし，0.01mg/ml (n=8), 0.033mg/ml (n=8) および0.1mg/ml (n=8) の溶液を作成し，抗原吸入の10分前にそれぞれ30秒間吸入投与した．吸入抗原液として生理食塩水に溶解した卵白アルブミン 1mg/ml を用い，30秒間吸入負荷を行い，以後 Pao の変化を測定した．

3．ロイコトリエン C_4 (leukotriene C_4, LTC_4) 吸入誘発気道収縮に対する効果

溶媒 (n=10) または各濃度 (0.01mg/ml: n=9, 0.033mg/ml: n=8) の S-1452 を30秒間吸入負荷した10分後に，生理食塩水に溶解した LTC_4 0.01, 0.033, 0.1, 0.33および 1.0μg/ml を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を観察した．

4．PAF 吸入誘発気道収縮に対する効果

PAF は牛血清アルブミンを生理食塩水に溶解し0.25%としたものを溶媒とし，100, 200および 400μg/ml の濃度に調節した．溶媒 (n=8) または各濃度 (0.01mg/ml: n=8, 0.033mg/ml: n=6, 0.1mg/ml: n=6, 1.0mg/ml: n=5) の S-1452 を吸入投与した10分後に，各濃度の PAF を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

Ⅴ．ロイコトリエン受容体拮抗剤 (AS-35) の各種気道収縮物質に対する効果

1．LTC_4 吸入誘発気道収縮に対する効果

AS-35 は定量噴霧器により，溶媒 (n=7), 0.1mg (n=6), 0.3mg (n=6) または1.0mg (n=7) を吸入投与した．AS-35 を投与してから20分後に，生理食塩水に溶解した LTC_4 0.1, 0.33および 1.0μg/ml を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

2．抗原吸入誘発気道収縮に対する効果

上記 Ⅳ．2．の実験と同様に受動感作したモルモットに対して，溶媒 (n=6), 0.1mg (n=6) または 1.0mg (n=6) の AS-35 を投与し，20分後に OA (1mg/ml) を吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

3．STA_2 吸入誘発気道収縮に対する効果

前処置として溶媒 (n=7) または AS-35 1.0mg (n=7) を吸入投与したモルモットに，20分後に上記 Ⅳ.1. の実験と同様，生理食塩水に溶解し，0.1, 0.33および1.0μg/ml の濃度に調整した STA_2 を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を観察した．

4．PAF 吸入誘発気道収縮に対する効果

溶媒 (n=6), 0.1mg (n=6) または 1.0mg (n=6) の AS-35 を吸入投与した20分後に，上記 Ⅴ.4. のごとく溶解した100, 200および 400μg/ml の PAF 溶液を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

Ⅵ．PAF 受容体拮抗剤 (Y-24180) の各種気道収縮物質に対する抑制効果

1．PAF 吸入誘発気道収縮に対する効果

Y-24180 は0.5%メチルセルロースを溶媒とし 0.1mg/ml, 1.0mg/ml, 10mg/ml の溶液を作成し，PAF 吸入1～2時間前に溶媒または各濃度の Y-24180 を実験動物に腹腔内投与した．モルモットは投与量によりコントロール群 (0.5%メチルセルロース 0.5ml/kg 投与) (n=5)，0.1mg/kg (n=6)，1.0 mg/kg (n=5) および 10mg/kg 投与群 (n=4) の4群に分けた．Ⅳ.4. と同様100，200および 400μg/ml の濃度に調整した PAF を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

2．抗原吸入誘発気道収縮に対する効果

モルモットには Ⅳ.2. と同様に前処置を行った．Y-24180 は上記と同様0.5%メチルセルロースを溶媒として 0.1mg/ml, 1.0mg/ml および 10mg/ml の溶液を作成し腹腔内投与した．モルモットは Y-24180 の投与量により 0.1mg/kg (n=6)，1.0 mg/kg (n=5) および 10mg/kg 投与群 (n=4) の3群に分けた．Y-24180 を投与した1～2時間後に OA を30秒間吸入負荷し，以後 Pao の変化を測定した．

3．STA2 吸入誘発気道収縮反応に対する効果

溶媒 (n=6) または各用量 (1mg/kg : n=6, 10mg/kg : n=6) の Y-24180 を腹腔内投与し，その1～2時間後に，生理食塩水に溶解し，0.1，0.33および 1.0μg/ml の濃度に調整した STA_2 を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

4．LTC_4 吸入誘発気道収縮に対する効果

溶媒 (n=7) または各用量 (0.1mg/kg : n=7, 1.0mg/kg : n=8, 10mg/ml : n=7) の Y-24180 を腹腔内投与し，その1～2時間後に，生理食塩水に溶解した LTC_4 0.01，0.033，0.1，0.33および 1.0μg/ml を低濃度より順次10分間隔で30秒間吸入負荷し，Pao の変化を測定した．

Ⅶ．使用薬物

使用した薬物は以下のとおりである．即ち卵白アルブミン (OA) (Sigma, Basel, Switzerland)，完全フロインドアジュバント (complete Freund's adjuvant, CFA) (Difco Laboratories, New York, U.S.A.)，S-1452 (塩野義製薬，大阪より提供)，Y-24180 (吉富薬品，大阪より提供)，AS-35 (東京田辺製薬，東京より提供)，STA_2 (小野薬品，大阪より提供)，ロイコトリエン C_4 (LTC_4) (Sigma)，PAF (武田薬品工業，大阪より提供)，ジフェンヒドラミン (diphenhydramine HCl) (Sigma)，ネンブタール (Abott Laboratories, Chicago, U.S.A.)

Ⅷ．統計学的検定法

成績はすべて平均値±標準誤差で表した．Kruskal-Wallis 法によって全群間の有意差検定をした後 Hollander-Wolfe 法によって各群間の有意差検定を行った．両側検定で危険率5%以下を有意差ありと判定した．

成　　績

Ⅰ．トロンボキサン A_2 受容体拮抗剤 (S-1452) の各種気道収縮物質に対する効果

1．STA2 吸入誘発気道収縮に対する効果 (図2)

S-1452 吸入投与は STA_2 による気道収縮を用量依存性に抑制した．即ちコントロール群の Pao の増加率は，0.10，0.33およ

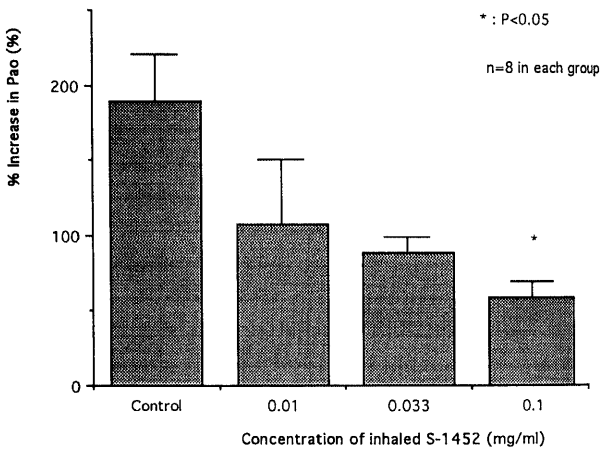

Fig. 3. Effect of S-1452 on allergic bronchoconstriction induced by antigen inhalation. The animals were pretereated with diphenhydramine (DPH). Each bar represents mean±SE. *p<0.05 vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

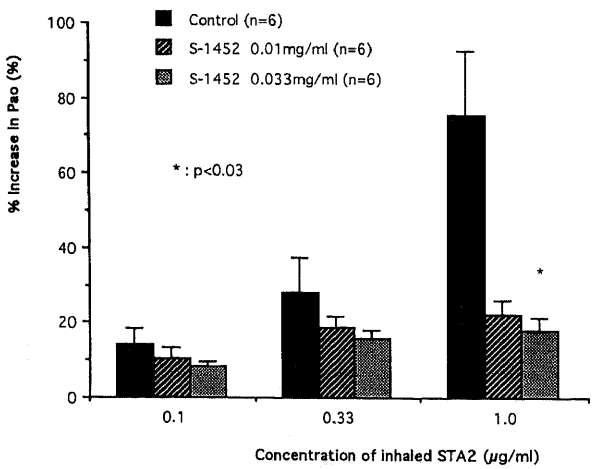

Fig. 2. Effect of S-1452 on inhaled STA_2-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. *p<0.03 vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

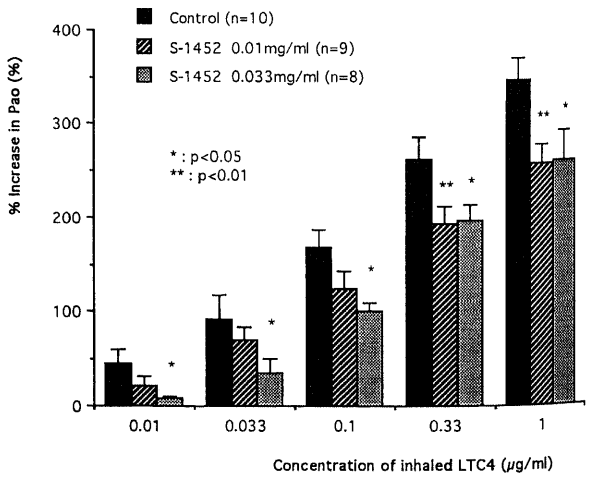

Fig. 4. Effect of S-1452 on inhaled LTC_4-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. *p<0.05, **p<0.01 vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

び1.0μg/ml の STA_2 吸入後にそれぞれ14.2±4.8，28.2±10.8および75.2±17.3%であったのに対し，S-1452 0.01mg/ml 投与群ではそれぞれ10.6±2.9，19.1±1.4および22.2±3.0%，0.033mg/ml 投与群ではそれぞれ8.5±1.0，16.1±2.4および18.1±2.6%であり吸入 STA2 の濃度が 1.0μg/ml の Pao の増加率はコントロール群および S-1452 0.033mg/ml 投与群との間に有意差を認めた ($p<0.03$).

2．抗原吸入誘発気道収縮に対する効果（図3）

S-1452 吸入投与は抗原吸入誘発による即時型の気道収縮を用量依存性に有意に抑制した．即ちコントロール群においては抗原吸入による Pao の増加率は189.5±30.6であったのに対し，S-1452 0.01，0.033および 0.1mg/ml 吸入投与群での Pao の増加率はそれぞれ107.4±30.6，88.0±10.6および58.8±11.0%であり S-1452 0.1mg/ml 吸入投与群においてコントロール群との間に有意差を認めた ($p<0.05$).

3．LTC_4 吸入誘発気道収縮に対する効果（図4）

S-1452 吸入投与は LTC_4 吸入による気道収縮を用量依存性に有意に抑制した．即ち LTC_4 0.01，0.033，0.1，0.33および1.0μg/ml 吸入に対する Pao の増加率はコントロール群でそれぞれ47.6±15.9，96.8±25.1，171.7±17.5，263.2±19.0および348.9±22.9であったのに対し，S-1452 0.01mg/ml 投与群では22.9±7.9，73.3±18.7，122.5±16.8，190.5±18.7および263.5±17.5であり，LTC_4 0.33および1.0μg/ml 吸入においてコントロール群との間に有意差を認めた ($p<0.01$)．また S-1452 0.033mg/ml 投与群ではそれぞれ9.2±2.1，35.2±11.1，101.0±6.3，193.3±16.2および273.3±26.0%であり各濃度の LTC4 吸入においてコントロール群との間に有意差を認めた ($p<0.05$).

4．PAF 吸入誘発気道収縮に対する効果（図5）

S-1452 は PAF 吸入による気道収縮を用量依存性に抑制した．即ち PAF100, 200 および 400μg/ml 吸入負荷による生理食塩水吸入投与群の Pao の増加率は52.6±12.1，81.6±13.9および116.9±17.8%であったのに対し，S-1452 を0.01mg/ml 吸入投与した群では各濃度の PAF 吸入に対する Pao の増加率は37.0±6.7，62.0±9.5および126.5±21.5%であり，0.033mg/ml 吸入投与群では31.5±4.4，48.5±7.4および95.7±5.5%，また 0.1mg/ml 吸入投与群では23.3±3.2，29.3±3.0および58.6±9.4%であった．1.0mg/ml 吸入投与群では Pao の増加率は各濃度の PAF 吸入に対して有意差を認め，それぞれ13.2±2.8 ($p<0.03$)，28.2±4.8 ($p<0.04$) および44.2±12.1 ($p<0.05$) であった．

Ⅱ．ロイコトリエン受容体拮抗剤（AS-35）の各種気道収縮物質に対する効果

1．LTC_4 吸入誘発気道収縮に対する効果（図6）

AS-35 の吸入前処置は LTC_4 吸入負荷による気道収縮を用量依存性に有意に抑制した．即ちコントロール群においては LTC_4 0.10，0.33および1.0μg/ml 吸入負荷による Pao の増加率は95.5±16.3，246.2±42.9および369.7±41.0%であったのに対し，AS-35 0.1mg 吸入前処置群では各々77.0±21.2，235.6±18.4および367.5±32.0%，0.3mg 吸入前処置群では71.3±20.2，165.4±42.6および254.2±47.3%，1.0mg 吸入前処置群では49.1±6.3，123.1±20.8および194.8±14.1%であ

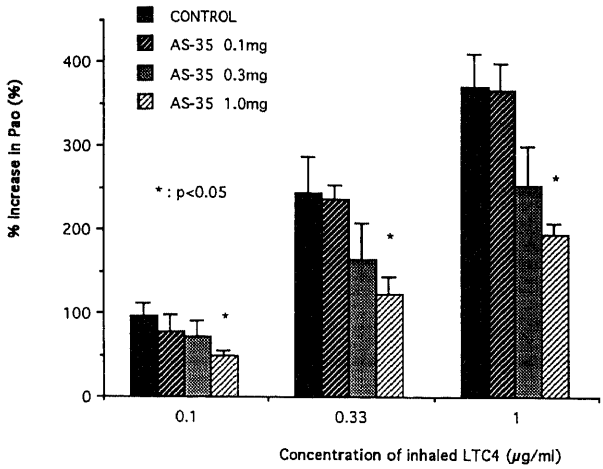

Fig. 6. Effect of AS-35 on inhaled LTC_4-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. *$p<0.05$ vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

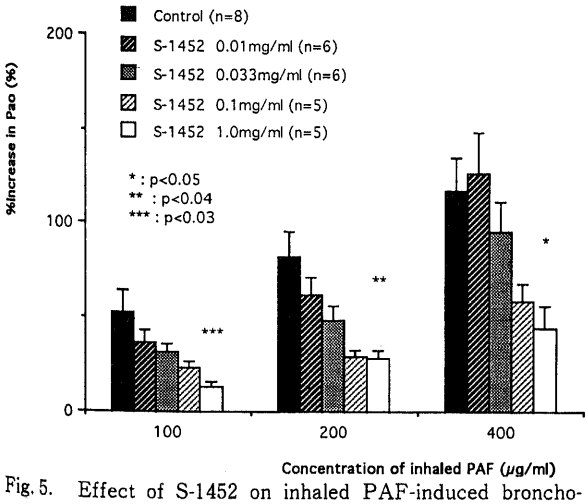

Fig. 5. Effect of S-1452 on inhaled PAF-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. *$p<0.05$, **$p<0.04$, ***$p<0.03$ vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

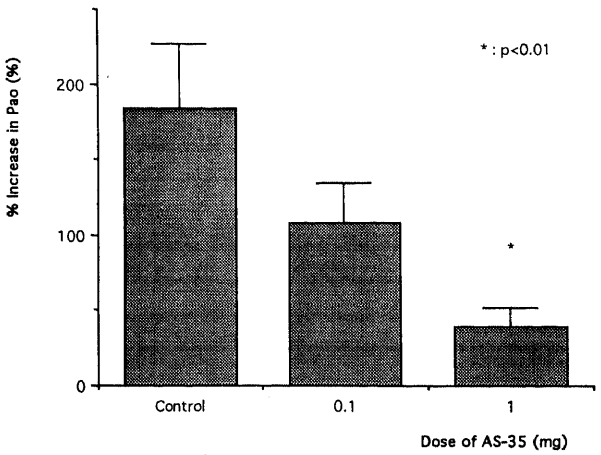

Fig. 7. Effect of AS-35 on allergic bronchoconstriction after antigen inhalation. The animals were pretreated with DPH. Each bar represents mean±SE. *$p<0.01$ vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

り，吸入 LTC_4 の各濃度においてコントロール群と AS-35 1.0 mg 吸入前処置群との間に有意差を認めた ($p<0.05$).

2．抗原吸入誘発気道収縮に対する効果（図7）

AS-35 は用量依存性に受動感作モルモットの抗原負荷による即時型気道収縮を抑制した．抗原吸入に対する Pao の増加率がコントロール群で184.3±42.1%であったのに対し，AS-35 0.1 mg 吸入前処置群では108.5±26.1%，1.0mg 投与群では38.5±12.6%であり，コントロール群と 1.0mg 吸入前処置群との間に有意差を認めた ($p<0.01$).

3．STA_2 吸入気道収縮に対する効果（図8）

AS-35 の 1mg 吸入前処置は，各濃度の STA_2 吸入負荷による気道収縮を抑制しなかった．即ち，STA2 0.1，0.33および 1.0μg/ml 吸入負荷による Pao の増加率はコントロール群ではそれぞれ8.9±3.4，90.9±9.7および267.6±18.7%であったのに対し，AS-35 1.0mg 吸入前処置群では7.3±3.1%，94.9±21.5および247.6±9.4%であり，いずれの濃度の STA_2 吸入に対しても統計学的に有意差は認めなかった．

4．PAF 吸入誘発気道収縮に対する効果（図9）

AS-35 の吸入前処置は PAF 吸入負荷による気道収縮には影響を与えなかった．即ち，PAF 100, 200 および 400μg/ml 吸入負荷による Pao の増加率は，溶媒投与群ではそれぞれ44.4±14.2%，123.4±27.8および147.3±44.8%であり，AS-35 0.1 mg 吸入前処置群では35.0±12.6%，104.8±18.2および117.1±13.8%，また AS-35 1.0mg 吸入前処置群では61.4±18.8%，109.2±24.2および120.9±27.0%であり，いずれの群間にも統計学的に有意差は認めなかった．

Ⅲ．PAF 受容体拮抗剤 (Y-24180) の各種気道収縮物質に対する抑制効果

1．PAF 吸入誘発気道収縮物質に対する効果（図10）

Y-24180 は PAF 吸入による気道収縮を用量依存性に抑制した．即ち PAF 100, 200 および 400μg/ml 吸入に対して0.5%メチルセルロース投与群での Pao の増加率は40.5±7.2%，73.0±14.0および107.0±11.6%であったのに対し，0.1mg/kg の Y-24180 投与群ではそれぞれ16.1±3.6%，23.6±5.5および37.2±6.2%であった．1.0mg/kg 投与群では各濃度の PAF 吸入において Pao の増加率はコントロール群に比較して有意に抑制され，それぞれ4.6±1.2 ($p<0.02$)，11.7±2.3 ($p<0.03$) および20.1±3.6% ($p<0.03$) であった．また 10mg/kg 投与群においても同様に有意差を認め，Pao の増加率は3.3±2.0 ($p<0.01$)，8.6±1.6 ($p<0.01$) および13.3±2.3 ($p<0.01$) であった．

2．抗原吸入誘発気道収縮に対する効果（図11）

Y-24180 の前投与は抗原吸入誘発による即時型の気道収縮を各用量においてまったく抑制しなかった．即ち溶媒投与群の Pao 増加率が203.4±27.0%であったのに対し，Y-24180 1.0および 10mg/kg 投与群での Pao の増加率はそれぞれ205.8±39.9および200.5±69.7%であり，各群間には統計学的に有意差は認められなかった．

3．STA_2 吸入誘発気道収縮反応に対する効果（図12）

Y-24180 前投与は STA2 吸入による気道収縮を抑制しなかった．即ちコントロール群の Pao 増加率は，STA_2 0.1，0.33および1.0μg/ml の吸入に対しそれぞれ10.3±3.6，47.6±28.0およ

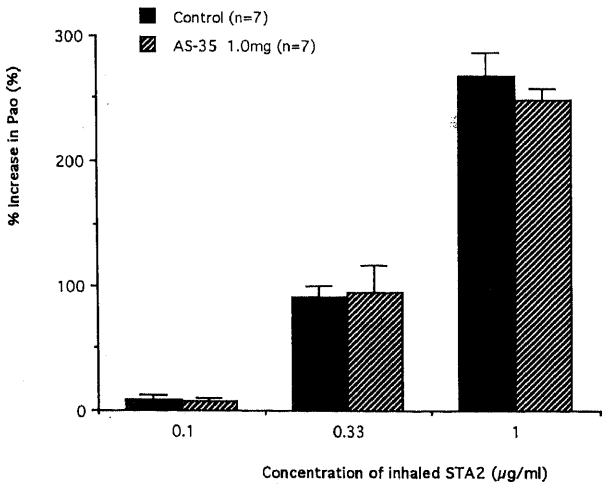

Fig. 8. Effect of AS-35 on inhaled STA_2-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. There was no significant difference between the control and treated groups.

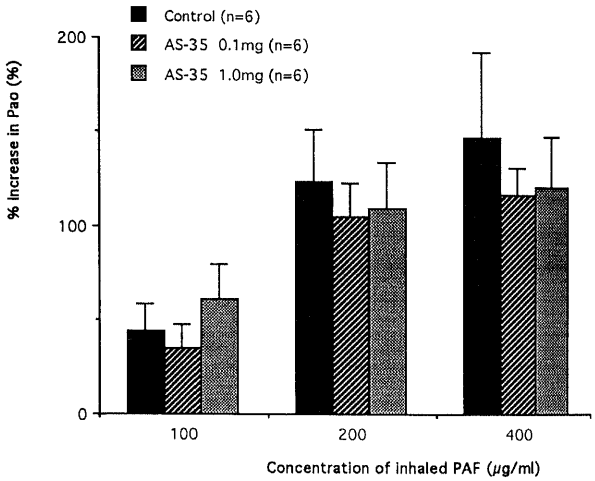

Fig. 9. Effect of AS-35 on inhaled PAF-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. There was no significant difference between the control and treated groups.

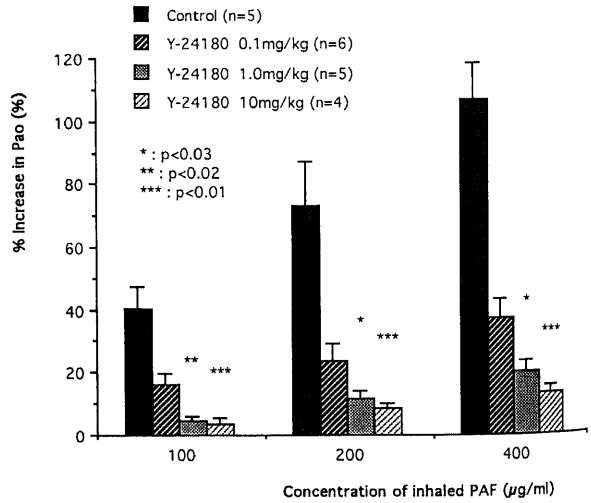

Fig. 10. Inhibitory effect of Y-24180 i.p. on inhaled PAF-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. *$p<0.03$, **$p<0.02$, ***$p<0.01$ vs control group by Kruskal-Wallis test followed by Hollander-Wolfe comparison.

び181.2±65.5%であったのに対し，Y-24180 1.0mg/kg 投与群では4.6±1.7，20.4±8.5および150.5±43.4%，10mg/kg 投与群においては3.4±1.0，35.5±18.1および215.0±72.1%であり，いずれの群間にも統計学的に有意差は認めなかった．

4．LTC_4 吸入誘発気道収縮に対する効果（図13）

Y-24180 前投与は LTC_4 吸入による気道収縮を抑制しなかった．即ちコントロール群の0.01，0.033，0.10，0.33および1.0 μg/ml の濃度の LTC_4 吸入に対する Pao の増加率はそれぞれ，8.9±1.7，49.4±12.9，103.4±14.6，215.5±33.4および303.9±32.1%，0.1mg/kg の Y-24180 投与群では15.4±5.8，70.8±19.4，147.5±29.7，242.0±37.4および322.6±18.7%，1.0mg/kg 投与群では8.8±2.0，44.3±11.7，110.0±18.4，232.8±32.9および353.3±41.4%，また 10mg/ml 投与群では5.1±0.9，29.2±11.4，108.8±29.2，187.2±46.0および300.2±55.4%であり，いずれの群間にも統計学的に有意差を認めなかった．

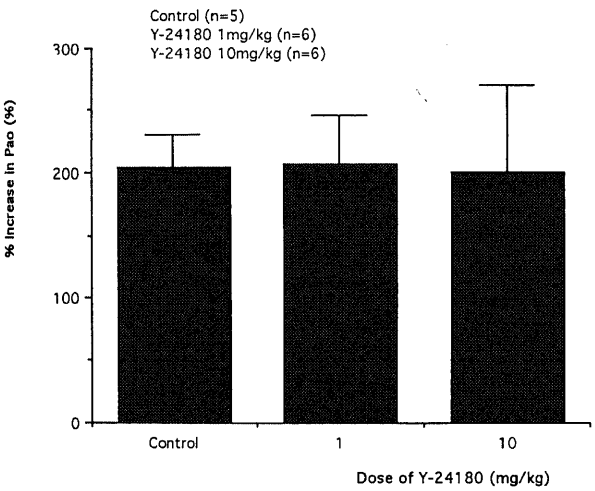

Fig. 11. Effect of Y-24180 on allergic bronchoconstriction induced by antigen inhalation. The animals were pretereated with DPH. Each bar represents mean±SE. There was no significant difference between each group.

考　　察

気管支喘息は可逆的な気道の収縮と気道の反応性亢進を特徴とした疾患である[4]．気道の反応性の亢進，即ち気道過敏性亢進は気管支喘息の本態をなすものであるが，近年これは好酸球、好中球などの炎症細胞浸潤を主体とした気道の炎症によってもたらされると考えられている．また慢性喘息のモデルとされる遅発型喘息においても，その成立の中心は一般的には気道の炎症であると理解されている．

この気道の炎症を形成する中心的役割を果たしているのは気道に存在する細胞から放出される種々の化学伝達物質であり，なかでも近年注目を集め多くの研究がなされているのはアラキドン酸から生合成される脂質化学伝達物質である．アラキドン酸は生体膜成分の燐脂質に組み込まれており，細胞が何らかの生理的な刺激を受けた場合にフォスフォリパーゼが活性化されて燐脂質が加水分解され，アラキドン酸の遊離が見られるとされる[5]．現在気管支喘息の病態にもっとも重要であると考えられているプロスタノイドやロイコトリエン等のエイコサノイドは，フォスフォリパーゼ A_2 によって生体膜より切り出されたアラキドン酸がシクロオキシゲナーゼ，5-リポキシゲナーゼの作用により，酸素添加を受け産生される[6]．またアラキドン酸が切り出される際にフォスフォリパーゼ A_2 は同時にリゾフォスフォリピッドを遊離するが，これがアセチル化されると PAF が生じる[7]．PAF も多様な生理活性を示し[8]，アラキドン酸代謝産物と並んで気管支喘息の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられている．

プロスタノイドはアラキドン酸よりシクロオキシゲナーゼを介して産生され，プロスタグランジン E_2 (prostaglandin E_2, PGE_2) プロスタグランジン I_2 (prostaglandin I_2, PGI_2) 等の気道拡張性のプロスタグランジンとプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ (prostaglandin $F_{2\alpha}$, $PGE_{2\alpha}$)，プロスタグランジン D_2 (prostaglandin D_2, PGD_2), TXA_2等の気道収縮性のプロスタグランジンが存在する[9]．なかでも TXA_2はそれ自身の強い気道収縮作用[10]と併せて気道過敏性の亢進作用を有し[11]，気管支喘息や気道過敏

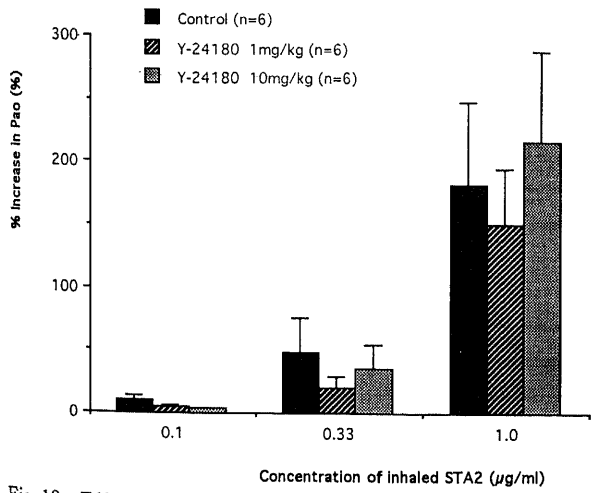

Fig. 12. Effect of Y-24180 on inhaled STA_2-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. There was no significant difference between the treated and untreated groups.

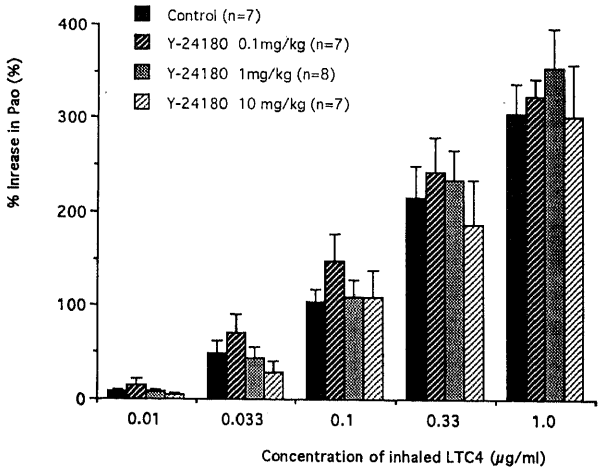

Fig. 13. Effect of Y-24180 on inhaled leukotriene C_4 (LTC4)-induced bronchoconstriction. Each bar represents mean±SE. There was no significant difference between the control and treated groups as well as among treated group.

性亢進の病態において中心的な役割を果たす化学伝達物質の一つであることが TXA2 合成酵素阻害剤や受容体拮抗剤を用いた研究で確認され[11)~14)]，近年注目を集めている．

またロイコトリエンも強い気管支平滑筋収縮[15)16)]，血管透過性亢進[17)]，粘液産生亢進作用[18)]を有し，気管支喘息の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられている．

PAF は気道平滑筋収縮作用，強い血管透過性亢進作用，炎症細胞の遊走，活性化作用を有する．PAF の投与は喘息の特徴である気道の収縮，気道反応性の亢進，好酸球の気道粘膜，気道腔への浸潤を再現する[8)]．

これら TXA_2，ロイコトリエン，PAF の相互作用については，すでに1980年代初頭より注目されており，Vargaftig ら[19)]や Omini ら[20)]はロイコトリエン静注による気道収縮がシクロオキシゲナーゼの阻害剤であるインドメサシンやアスピリンの前処置により抑制されることを報告し，ロイコトリエンによる気道収縮はシクロオキシゲナーゼ代謝産物，特に TXA_2を介して生じると報告した．しかしその後 Hamel ら[21)]，Leitch ら[22)]はロイコトリエン吸入による気道収縮はインドメサシン前処置により増強するという，静脈内投与の場合と全く異なる報告をした．また PAF が TXA_2を誘導するか否か[23)~25)]，ロイコトリエンが TXA_2を誘導するか否か[21)22)]についても同様に肯定，否定両方の報告があり，一定の見解が得られていない．さらに TXA_2やロイコトリエンが PAF を誘導するか否かを検討した報告はない．そこで我々は気管支喘息の病態形成における主要な脂質化学伝達物質である TXA_2，ロイコトリエン，PAF のアゴニストおよびアンタゴニストを用い，アゴニストのすべてを吸入投与することにより，一つの実験系で三者の間の相互作用を検討することとした．

まず各々のアンタゴニストとしての作用を確認した．即ち TXA_2，ロイコトリエン，PAF のアンタゴニストとして各々 S-1452, AS-35, Y-24180 を用い，それぞれの前投与により各アゴニスト吸入投与による気道収縮が用量依存性に有意に抑制されることを確認した．

つぎに受動感作モルモットを用い，抗原吸入誘発による即時型の気道収縮に対する各アンタゴニストの抑制効果を検討した．この喘息モデルに於いては SRS-A の作用が主であるとされているが[1)]，S-1452, AS-35 とも有意に気道収縮を抑制した．S-1452 が即時型気道収縮を抑制した点については，TXA_2合成酵素阻害剤を用いた藤村ら[12)]の報告に矛盾しない結果である．また AS-35 の効果に関しては Fujimura ら[26)]が FPL-55712 を用いて行った実験結果に矛盾しない．以上の結果は本実験系に TXA_2，ロイコトリエンが中心的役割を果たしていることを示している．今回の我々の結果では抗 PAF 剤は即時型気道収縮に対して全く抑制効果を示さなかった．PAF 拮抗剤が即時型の気道収縮に対して抑制効果を有することは以前より報告されているが，それらのほとんどは抗原を静脈内投与している[27)28)]．抗原を静脈内投与した場合と吸入投与した場合では流血中の血液細胞や血管内皮細胞の影響の有無により気道収縮が異なる機序でおこる可能性が報告されており[29)]，気管支喘息の病態解明の上からは当然抗原は吸入投与することが望ましいが，筆者の検索しえた限りでは抗原の吸入投与における PAF 拮抗剤の効果を検討した報告は BN-52021 を用いた Lagente ら[30)]の報告だけである．しかし彼らの報告では PAF 吸入投与に対する BN-52021 の抑制効果や，即時型気道収縮に対する BN-52021 の用量反応性が検討されていないので，投与した薬剤の量が不必要に多すぎる可能性もある．我々は，吸入した PAF による気道収縮を抑制するのに十分な量の Y-24180 を用いて即時型気道収縮抑制効果を検討した．したがって外来性の PAF による気道収縮を抑制する量の PAF 拮抗剤が即時型気道収縮を全く抑制しないと言う結果は，本反応においては PAF は関与していないことを示している．

S-1452 の吸入投与の後にロイコトリエン，PAF を吸入するといずれの場合も気道収縮は S-1452 によって用量依存性に抑制された．即ちロイコトリエンおよび PAF による気道収縮は TXA_2の作用を介していると考えられる．ロイコトリエンの作用が TXA_2を介していることは，Fujimura ら[31)]がすでに TXA2 合成酵素阻害剤である OKY-046 を用いて報告している．OKY-046 を用いた場合，TXA_2の合成が阻害されると同時に，TXA_2合成酵素の基質である PGH_2から産生される気道拡張性のプロスタグランジンである PGH_2，PGI_2が増加することが示されている[32)]．今回の実験は受容体拮抗剤を用いているので他のプロスタノイドの誘導はない[33)]と考えられ，その意味でロイコトリエントと TXA_2の間の相互作用をより正確にまた直接的に証明したと言える．また PAF が TXA_2を誘導するか否かについてはこれに肯定的な報告[23)34)]と否定的な報告[35)]がある．肯定的な報告はいずれも PAF を吸入投与しており，否定的な報告は PAF を静脈内投与している．PAF の投与経路に関しては経静脈的な投与による気道収縮は吸入投与と異なり血小板の作用を介していることが知られている[35)36)]．またロイコトリエンについては静脈内投与した場合と吸入投与した場合ではシクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメサシンに対する態度が異なることが報告されており[21)]，先に述べた抗原投与の場合と同様血管系の関与の有無により異なる機序が働くことが想定されている[12)]．気管支喘息においては PAF 遊離の引き金となるのは経気道的に吸入された抗原であり，その際肥満細胞，あるいは好中球，好酸球，マクロファージなどの気道に存在する種々の炎症細胞から PAF が放出されるので，当然血管系の関与は少ないと考えられ，PAF 吸入投与は静脈内投与に比べてより喘息の病態に近いと考えられる．よって気道局所においては PAF は TXA2 を誘導する作用を有していると考えられる．

Y-24180 腹腔内投与による前処置は，STA_2, LTC_4による気道収縮に対して影響を与えなかった．即ち，TXA_2あるいはロイコトリエンの作用は PAF を介していないと考えられる．TXA_2やロイコトリエンに PAF を誘導する作用があるか否かについてはこれまで報告がないので従来の知見と我々の結果を比較することはできない．しかし TXA_2，ロイコトリエンはアラキドン酸を共通の前駆物質とするのに対し，先に触れたように PAF の前駆物質であるリゾフォスフォリピッドは細胞膜燐脂質からフォスフォリパーゼ A_2がアラキドン酸を切り出す際に同時に産生され，一連の細胞膜燐脂質の代謝過程の早い段階でアラキドン酸代謝系と別経路をたどるためである可能性がある．

AS-35 吸入投与による前処置は，PAF 吸入，STA_2吸入のいずれによっておこる気道収縮に対しても抑制効果は示さなかった．TXA_2がロイコトリエンを誘導するか否かを検討した報告は他にない．PAF ロイコトリエンを誘導するか否かについては，Voelkel ら[37)]，Bonnet ら[38)]はこれを肯定する報告をしているが，いずれも PAF は血管内投与されており先に述べた理由

により血管系の関与が大きいこの方法では気管支喘息の病態を正確には反映していない可能性がある．今井ら[34]は犬に PAF を吸入投与した際の気道反応性の亢進が選択的 5-リポキシゲナーゼ阻害剤である AA-861 投与により抑制されたと報告し，5-リポキシゲナーゼ代謝産物の関与を示唆している．これは我々の結果とは反する報告であるが，この差は実験に用いた動物の違いによる可能性が考えられる．Smith ら[39]はヒトに PAF を吸入させ，この際の気道収縮はインドメサシンにより抑制されなかったとし，吸入 PAF 誘発気道収縮にはシクロオキシゲナーゼは関与していないと結論しているが，先に述べたようにシクロオキシゲナーゼ代謝産物のなかには気道拡張性プロスタノイドと気道収縮性プロスタノイドが含まれているため，インドメサシンを用いた場合にはシクロオキシゲナーゼ代謝産物全体としての作用はわかっても，個々の化学伝達物質の作用については各々に対し特異的な拮抗剤を用いた実験を行わなければ正確な結論を得ることはできない．

以上述べてきた様に，TXA_2，ロイコトリエン，PAF 三者間の相互作用については部分的には数多くの報告があるが，TXA_2 あるいはロイコトリエンが PAF を誘導するか否かに関する検討はなされておらず，またすべてのアゴニストを吸入投与した系，即ち血管系の関与を排除した実験系で肺局所における三者の相互作用を総合的に検討した研究は本研究が初めてである．近年種々の化学伝達物質に対する新しい拮抗剤が開発されているが，それらを用いて即時型気道収縮に対する抑制効果を検討すると，今回の我々の結果に示されたように，それぞれの抑制効果の和は100%をはるかに越える．その理由は各々の化学伝達物質は独立して作用しているのではなく，互いに影響を及ぼしながら作用している為であると考えられる．本研究では気管支喘息の病態を形作る代表的な脂質化学伝達物質である TXA_2，ロイコトリエン，PAF の三者の相互作用について総合的に検討した．近年気管支喘息はその病態の不均一性が注目されている．藤村らは気管支喘息の患者の気道反応性は，TXA2 合成酵素阻害剤である OKY-046[13][40]や受容体拮抗剤である AA-2414[14]により改善する群と，ロイコトリエン拮抗剤である ONO-1078[41]により改善する群があることを報告しており，主要な役割を果たしている化学伝達物質が患者によって異なる可能性があることを示唆している．今回の実験結果は，PAF，ロイコトリエンのいずれもが TXA_2 が作用を介して気道収縮を起こすことを明らかにした点で TXA_2 の重要性を示唆するとともに，気管支喘息における化学伝達物質からみた不均一性解明の一助になるものと考える．

結　　論

モルモットの気道局所における化学伝達物質の相互作用を検討する目的で，TXA_2，ロイコトリエン，PAF のアゴニストを吸入投与し，この際生じる気道収縮に対する三者の拮抗剤の効果を各々の伝達物質について検討し，以下の知見を得た．

1．各化学伝達物質に対する特異的拮抗剤は，それぞれの伝達物質による気道収縮を用量依存性に有意に抑制した．

2．抗原吸入による即時型の気道収縮は，TXA_2 受容体拮抗剤，ロイコトリエン受容体拮抗剤により有意に抑制されたが，PAF 拮抗剤では抑制されず，PAF は本反応には関与していないことを示唆した．

3．LTC_4, PAF 吸入による気道収縮は，TXA_2 受容体拮抗剤により有意に抑制され，ロイコトリエン，PAF の作用は TXA_2 の作用を介していることを示唆した．

4．TXA_2，LTC_4 による気道収縮は PAF 拮抗剤によって抑制されず，TXA_2，LTC_4 の作用は PAF を介していないことを示唆した．

5．TXA_2，PAF 吸入による気道収縮はロイコトリエン拮抗剤によっては抑制されず，TXA_2，PAF の作用はロイコトリエンの作用を介していないことを示唆した．

以上より気管支喘息における主要な脂質化学伝達物質である TXA_2，ロイコトリエン，PAF の三者の間には気道局所において，ロイコトリエン，PAF の作用は TXA_2 の作用を介しているが，TXA_2 はロイコトリエン，PAF を誘導せず，またロイコトリエンと PAF の間には相互作用が存在しないことが示された．これらの成績は気管支喘息の病態における TXA_2 の重要性を示唆する．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，本研究の機会と御校閲を賜った松田保教授ならびに御指導，御校閲いただいた藤村政樹講師に深甚なる謝意を表します．同時に御協力いただいた当教室呼吸器グループの諸先生に感謝いたします．さらに統計学的検討について貴重なご助言を戴きました金沢大学医学部衛生学教室の橋本和夫教授に深く感謝の意を表します．

なお，本論文の要旨の一部は第42回日本アレルギー学会総会において発表した．

文　　献

1） **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**, 365-375 (1983).

2） **南　真司，岡藤和博，佐賀　努，藤村政樹，金森一紀，宮保　進，服部絢一，川井　清**：モルモットにおける定量的吸入負荷装置の開発．日胸疾会誌，**21**, 252-258 (1983).

3） **Santives, T., Roska, A. K. Hensley, G. T., Moore, V. L., Fink, J. H. & Abramoff, P.**: Immunologically induced lung disease in guinea pig. J. Allergy Clin. Immunol., **57**, 582-594 (1976).

4） **Frazer, R. G., Peter Pare, J. A., P. D., Frazer, R. S. & Genereux, G. P.** : Diagnosis of the Diseases of the Chest, 3rd ed., p2019 W. B. Saunders company Harcourt Brace Jovanovich, Inc., Philadelphia, 1990.

5） **水野啓子，山本尚三**：アラキドン酸カスケードとその酵素．アラキドン酸カスケードと薬（山本尚三編），第1版，1-20頁，現代医療社，東京，1985.

6） **上田夏生**：図説アラキドン酸カスケード．日本臨床，**48**, 1110-1112 (1990).

7） **Henderson, W. R. Jr.**: Eicosanoid and platelet-activating factor in allergic respiratory disease. Am. Rev. Respir. Dis., **143**, S86-S90 (1991).

8） **牧野荘平**：アレルギー反応における PAF（血小板活性化因子）．アレルギー，**37**, 245-249 (1988).

9） **Barnes, P. J., Chung, K. F. & Page, C. P.**: Inflammatory mediators and asthma. J. Phramacol. Exp. Ther., **40**, 49-84 (1988).

10) **Svensson, J., Strandberg, K., Tuvemo, T. & Hamberg, M.**: Thromboxane A_2: Effects on airway and

vascular smooth muscle. Prostaglandins, **14**, 425-436 (1977).

11) **Fujimura, M., Saito, M., Kurahsima, K., Miyake, Y., Sakamoto, S. & Matsuda, T.:** Bronchoconstrictive properties and potentiating effect on bronchial responsiveness of inhaled thromboxane A_2 analogue (STA_2) in guinea pigs. J. Asthma, **26**, 237-242 (1989).

12) **藤村政樹，越野 健，西岡真二，松田 保：** Slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) を主体としたモルモットの抗原吸入誘発喘息モデルにおける thromboxane A_2 の関与. 呼吸，**3**, 1066-1071 (1984).

13) **Fujimura, M., Sasaki, F., Nakatsumi, Y., Takahashi, Y., Hifumi, S., Taga, K., Mifune, J., Tanaka, T. & Matsuda, T.:** Effect of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) and a lipoxygenase inhibitor (AA-861) on bronchial responsiveness to acetylcholine in asthmatic subjects. Thorax, **41**, 955-959 (1986).

14) **Fujimura, M., Sakamoto, S., Saito, M., Miyake, Y. & Matsuda, T.:** Effects of a thromboxane A_2 receptor antagonist (AA-2414) on bronchial hyperresponsiveness to methacholine in subjects with asthma. J. Allergy Clin. Immunol., **87**, 23-27 (1991).

15) **Dahlen, S. E., Hedqvist, P., Hammarstrom, S. & Samuelsson B.:** Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi. Nature, **228**, 484-486 (1980).

16) **Pipers, P. J., Sanhoum, M. N., Tippins, J. R., Williams, T. J., Palmar, M. A. & Pec M. J.:** Pharmacological studies on pure SRS-A and synthetic leukotrienes C_4 and D_4. *In* P. J. Piper (ed.), SRS-A and Leukotrienes, 1st ed., p81-99, John Wiley, New York, 1981.

17) **Peck, M. J., Piper, P. J., & Wolliams, T. J.:** The effects of leukotrines C_4 and D_4 on the microvasculature of guinea pigs. Prostaglandins, **21**, 315-321 (1981).

18) **Marom, Z., Shelhamer, J. H., Back, M. K., Morton, D. R. & Kaliner M. A.:** Slow reacting substances, leukotrines C_4 and D_4, increase the release of mucus from human airways in vitro. Am. Rev. Respir. Dis., **126**, 449-451 (1982).

19) **Vargaftig, B. B., Lefort, J., & Murphy, R. C.:** Inhibition by aspirin of bronchoconstriction due to leukotriene C_4 and D_4 in guinea pig. Eur J. Pharmacol., **72**, 417-418 (1981).

20) **Omini, C., Folco, G. C., Vigano, T., Rossoni, G., Bruneli, G, & berti F.:** Leukotriene C_4 induces generation of PGI_2 and TXA_2 in guinea-pig in vivo. Pharmacol. Res. Commun., **13**, 633-640 (1981).

21) **Hamel, R., Masson, P., Ford-Hutchinson A. W., Jones T. R., Brunet, G., & Piechuta, H.:** Differing mechanism for leukotriene D_4-induced bronchoconstriction in guinea pigs following intravenous and aerosol administration. Prostaglandins, **24**, 419-432 (1982).

22) **Leitch, A. G., Corey, E. J., Austen, K. F. & Drazen, J. M.:** Indomethacin potentiates the pulmonary response to aerosol leukotriene C_4 in the guinea pig. Am. Rev. Respir. Dis., **128**, 639-648 (1983).

23) **Chung, K. F., Aizawa, H., Leinkauf, G. D., Ueki, I. F. & Nadel, J. A.:** Airway hyperresponsiveness induced by platelet-activating factor: Role of thromboxane generation. J. Phramacol, Exp. Ther. **266**, 580-584 (1986).

24) **神谷勤子，足立 満，岡沢 明，今井俊道，岡田洋子，佐藤 仁，小林英樹，西片 光，高橋昭三：** PAF 吸入後の気道反応性亢進とそのメカニズムについて．アレルギー，**37**, 274-282 (1988).

25) **Lefort, J., Rotilio, D. & Vargaftig, B. B.:** The platelet-independent release of thromboxane A_2 by Paf-acether from guinea pig involves mechanisms distinct from those for leukotriene. Br. J. Pharmacol., **82**, 565-575 (1984).

26) **Fujimura, M., Koshino, T., Ishizaki, T., Minami, S., Saga, T. & Miyabo, S.:** Inhibitory effect of N-(3′, 4′-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5′) on SRS-A mediated bronchoconstriction in guinea pig in vivo. Allergy, **45**, 249-253 (1990).

27) **Casals-Stenzel, J.:** Effects of WEB 2086, a novel antagonist of platelet activating factor, in active and passive anaphylaxis. Immunopharmacology, **3**, 7-24 (1987).

28) **Touvay, C., Etienne, A. & Braquet, P.:** Inhibition of antigen-induced lung anaphylaxis in the guinea-pig by BN 52021 a new specific paf-acether receptor antagonist isolated from Ginkgo biloba. Agents Actions, **17**, 371-372 (1985).

29) **Fujimura, M., Koshino, T., Minami, S. & Matsuda, T.:** Differential effect of N-(3′, 4′-dimethoxycinnamoyl) anthranilic acid (N-5′) on aerosol vs. intravenous antigen-induced bronchoconstriction in guinea pigs. Jpn. J. Allergol., **34**, 967-973 (1985).

30) **Lagente, V., Touvay, C., Randon, J., Desquand, S., Cirino, M., Vilian, B., Lefort, J., Braquet, P. & Vargaftig, B. B.:** Interference of the PAF-acether antagonist BN 52021 with passive anaphylaxis in the guinea-pig. Prostaglandins, **33**, 265-274 (1987).

31) **Fujimura, M., Miyake, Y., Uoteni, K. & Kanamori, K.:** Secondary release of thromboxane A_2 in aerosol leukotriene C_4-induced bronchoconstriction in guinea pigs. Prostaglandins, **35**, 427-435 (1988).

32) **Naito, J., Komatsu, H., Ujiie, A., Hamano, S., Kubota, T. & Tsuboshima, M.:** Effects of thromboxane synthetase inhibitors in aggregation of rabbit platelets. Eur. J. Pharmacol., **91**, 41-48 (1983).

33) **Nagai, H., Kunimoto, M., Yoshitake, K., Iwama, T., Arimura, A. & Koda, A.:** The effect of three novel thromboxane A_2 receptor antagonists (S-1452, AA-2414 and ONO-3708) on the increase in pulmonary pressure caused by Forssman anaphylaxis in guinea-pigs. Prostaglandins Leukotrienes Essent. Fatty Acids, **45**, 233-238 (1992).

34) **今井俊道，足立 満，伊平慶三，桧山貴子，菅沼孝夫：** platelet activating factor 吸入による気道反応性亢進に対する thromoxane A_2 の関与について．アレルギー，**40**, 37-45 (1991).

35) **Vargaftig, B. B., Lefort, J., Chignard, M. & Benveniste, J.:** Platelet-activating factor induces a

platelet-dependent bronchoconstriction unrelated to the formation of prostaglandin derivatives. Eur. J. Pharmacol., **65**, 185-192 (1980).

36) 山田吾郎：健常者における Platelet activating factor (PAF) 吸入の影響の検討．第4回免疫薬理シンポジウム（宮本昭正編）99-114 頁，DMB ジャパン，東京，1986.

37) **Voelkel, N. F., Worthen, S., Reeves, J. T., Henson, P. M. & Murphy, R. C.**: Nonimmunological production of leukotrienes induced by platelet-activating factor. Science, **218**, 286-288 (1982).

38) **Bonnet, J., Thibaudeau, D. & Bessin, P.**: Dependency of the PAF-acether induced bronchospasm on the lipoxygenase pathway in the guinea-pig. Prostaglandins, **26**, 457-466 (1983).

39) **Smith, J. L., Rubin, A. E. & Patterson, R.**: Mechanism of platelet activating factor-induced bronchoconstriction on humans. Am. Rev. Respir. Dis., **137**, 1015-1019 (1988).

40) **Fujimura, M., Nishioka, S., Kumabashiri, I., Matsuda, T. & Mifune, J.**: Effect of aerosol administration of a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) on bronchial responsiveness to acethylcholine in asthmatic subjects. Chest, **98**, 276-279 (1990).

41) **Fujimura, M., Sakamoto, S., Kamio, Y. & Matsuda, T.**: Effect of leukotoriene antagonist, ONO-1078, on bronchial hyperresponsiveness in patienes with asthma. Respir. Med., in press (1992).

The Role of ThromboxaneA_2, Leukotrienes and PAF in Immeditate Asthmatic Response and Their Interactions in Guinea Pig Airway

Motoyasu Saito, Department of Internal Medicine (Ⅲ), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920

J. Juzen Med Soc., **101**, 730－739 (1992)

Key words interaction, PAF, leukotriene, thromboxane A_2, guinea pigs

Abstract

It is well known that lipid chemical mediators such as arachidonate metabolites play a major role in the pathogenesis of bronchial asthma and airway hyperresponsiveness, the most important feature of bronchial asthma. Recently many kinds of specific antagonists of chemical mediators or synthetase inhibitors have been developed and studies on their anti-asthmatic effects are in process. Since the anti-asthmatic effects of these antagonists are such that the summation of the effects of each antagonist against immediate asthmatic response exceed 100%, it is thought that synergism among some mediators exists, although the precise character is unclear. This study was conducted to characterize the role of thromboxane A_2 (TXA_2), leukotriene C_4 (LTC_4) and platelet activating factor (PAF) in immediate asthmatic response and the possible interactions among these lipid mediators in guinea pig airway responses induced by respective specific antagonist, namely S-1452 against thromboxane A_2, AS-35 against leukoktrienes and Y-24180 against PAF. First, animals were pretreated with an antagonist and then made to inhale a respective agonist. In an attempt to eliminate the influence of blood cells or vascular endothelial cells, chemical mediators were administered in aerosol form. As each antagonist showed significant inhibition against its agonist in a dose dependent manner, their antagonistic effects were confirmed. Second, to examine the role of each mediator in immediate asthmatic response (IAR), passively sensitized guinea pigs were preteated with each antagonist and then administered with antigen aerosol. S-1452 and AS-35 significantly inhibited the IAR in a dose dependent manner but Y-24180 did not. To characterize possible interactions of the three chemical mediators, animals were pretreated with an antagonist and then challenged by inhalation of three kinds of chemical mediators. As S-1452 significantly inhibited aerosolized LTC_4-and PAF-induced bronchoconstriction in a dose dependent manner, it is suggested that the bronchoconstriction induced by leukotrienes and PAF is mediated by secondarily produced thromboxane A_2. On the contrary, Y-24180 did not inhibit bronchoconstriction induced by aerosol TXA_2 or LTC_4 and AS-35 did not inhibit bronchoconstriction induced by TXA_2-or PAF-aerosol. These results indicate that leukotrienes and PAF do not interact with each other in the induction of bronchoconstriction, and the effect of TXA_2 is not mediated by secondary production of LTC_4 or PAF. These findings suggest the pivotal role of TXA_2 in the pathogenesis of bronchial asthma.