モルモットの同種細胞親和性抗体動員による遅発型気道反応の発現と化学伝達物質阻害剤およびステロイドの影響について

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: 新谷, 博元
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8345

金沢大学十全医学会雑誌　第100巻　第4号　788－802（1991）

モルモットの同種細胞親和性抗体動員による遅発型気道反応の発現と化学伝達物質阻害剤およびステロイドの影響について

金沢大学医学部内科学第三講座（主任：松田　保教授）
新　谷　博　元

（平成3年7月18日受付）

気管支喘息においては抗原吸入直後の即時型喘息反応の他に，近年になり抗原暴露後4～12時間遅れて再び発症する遅発型喘息反応 (late asthmatic response, LAR) が注目されている．LAR は気管支喘息の慢性化，重症難治化に関連する機序を解明する上で重要な病態像であり，LAR の発現機序の究明のため，著者はモルモット実験喘息モデルを用いた検討を行った．すなわち抗原吸入暴露と同時に同種細胞親和性抗体を含んだ抗血清を経静脈的に投与し，その後2.5～8時間に渡って発現する遅発型気道 (収縮) 反応 (late bronchial response, LBR) を観察した．更にステロイドおよび種々の化学伝達物質阻害剤を本反応系に投与し LBR に及ぼす影響についても検討した．LBR は正常血清群では一例も発現せず，抗血清投与群で全例発現した．LBR はステロイドであるリン酸デキサメサゾンの前投与により有意に抑制された．また抗ヒスタミン剤であるジフェンヒドラミン (diphenhydramine HCl, DPH) の前投与により，抗原暴露後比較的初期から中期にかけて気道反応は抑えられ，LBR も有意に抑制された．DPH を前処置したモデルにおいての検討では，LBR はトロンボキサンA_2 (thromboxane A_2, TXA_2) 合成阻害剤である OKY-046 前投与により有意に抑制された．また5-リポキシゲナーゼ選択的阻害剤である E6080 前投与によっても同様に抑えられた．また特異的な血小板活性化因子 (platelet activating factor, PAF) 拮抗剤である Y24180 前投与によっても抑制された．受動感作モルモットでの抗原吸入時の即時型気道収縮反応は，Y24180 の前投与により有意に抑制された．以上の成績は我々の LBR のモデルにおいて，同種細胞親和性抗体の血中から気道局所への動員が LBR の発現の引き金として重要な役割を果たすことを示唆している．また本反応にステロイドが有効である点，また本反応の形成にTXA_2, 5-リポキシゲナーゼ代謝系，PAF が関与している点より，ヒト喘息の LAR に類似したモデルであることが示され，著者の実験モデルの詳細な検討が LAR の発現機序の究明に重要な役割を果たすことが期待される．

Key words late asthmatic response, late bronchial response, homocytotropic antibody, chemical mediator inhibitors, guinea pigs

気管支喘息患者において抗原吸入直後の喘息発作，すなわち Coombs と Gell の I 型アレルギー反応[1]である IgE を介した即時型喘息反応 (immediate asthmatic response, IAR) の他に，近年になり抗原暴露後4～12時間遅れて再び発症する喘息発作，すなわち遅発型喘息反応 (late asthmatic response, LAR)[2]の重要性が注目されている．LAR は1873年 Blackley が初めて報告したとされる[3]が，これをまとめて研究したのは

Abbreviations: BALF, bronchoalveolar lavage fluid; CFA, complete Freund's adjuvant; DPH, diphenhydramine HC1; IAR, immediate asthmatic response; Ig G_1, E, immunoglobulin G_1, E; LAR, late asthmatic response; LBR, late bronchial response; LTB_4, C_4, D_4, E_4,

Herxheimer[2]が初めてである．LARは臨床上，IARに比べて気道収縮の持続時間が長く，気管支拡張薬であるβ_2刺激薬に対し反応性が低く，IARには効果の低い副腎皮質ホルモン剤が奏効するという特徴を有する[4]．またLARは気管支喘息の慢性化，重症難治化に関連する機序を解明する上で重要な病態像と考えられており，最近になりLARの発現機序に関する研究が数多く成されている．Cartierら[5]は喘息患者において吸入ヒスタミンに対する気道過敏性の大きさとLARの強度および持続時間とが相関することを示している．またDeMonchyら[6]は，抗原吸入後LARを来たした喘息患者の気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) で好酸球が有意に増加することを示し，好酸球とその化学伝達物質がLARの形成に関与することを示唆している．このようにLARの発現機序については気道の過敏性，気道の炎症，種々の化学伝達物質との関連で多くの報告がなされている．また喘息患者のLARの病態を解明するため，遅発型気道収縮反応 (late bronchial response, LBR) の動物実験モデルに関する研究もウサギ[7]，イヌ[8]，ラット[9]などで進められ，最近になりモルモットによる報告例も幾つか出てきている[10)~16)]．しかしこれらは能動感作による報告ばかりであり，一般的には受動感作によりLBRは発現しないと考えられ，モルモットもその例外ではないとみられている[17]．能動感作と受動感作との違いは大きく分けて細胞性免疫の有無[18]および抗体産生細胞の有無にある．我々は抗体産生細胞の有無に着目し，受動感作でLARが発現しないのは即時型の反応で消費された気道局所の同種細胞親和性抗体が血中から補われないためで，遅発相における気道収縮の直接の引き金はこの血中から動員されるべき同種細胞親和性抗体であろうとの仮説をたてた．そこでモルモット実験モデルにおいて卵白アルブミン (ovalbumin, OA) を抗原として抗OA血清を作成し，本来血中に存在するはずの

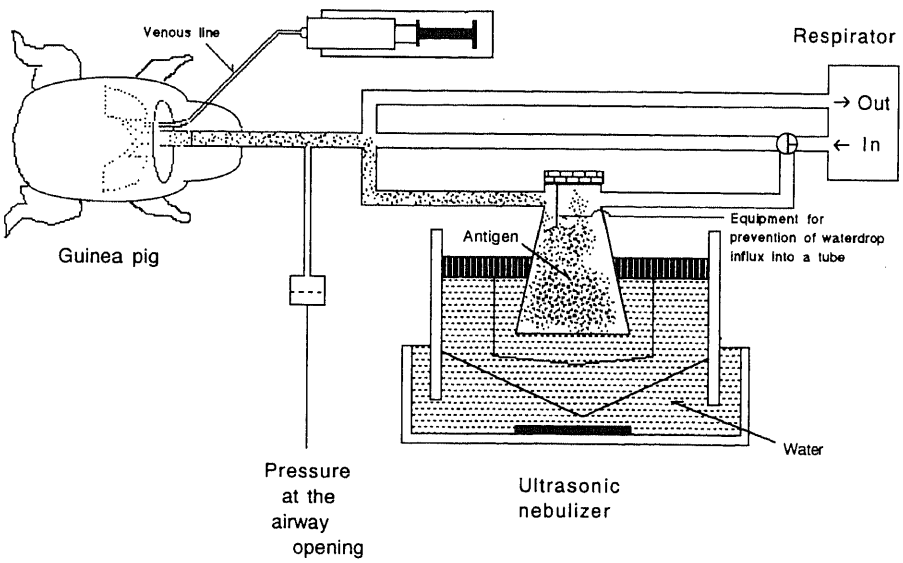

Fig. 1. Design of the experimental system. An anesthetized guinea pig was placed in a supine position, the trachea was cannulated with a polyethylene tube and one jugular vein was cannulated for the injection of homocytotropic antiserum or normal serum. The animal was artificially ventilated by a small animal ventilator and challenged with nebulized ovalbumin dissolved in saline (10mg/ml) for 30 sec using an ultrasonic nebulizer. Pressure at the airway opening (Pao) was continuously recorded to estimate the overall bronchoconstriction by an X-Y recorder.

leukotriene B_4, C_4, D_4, E_4: OA, ovalbumin; PAF, platelet activating factor; Pao, pressure at the airway opening; PCA, passive cutaneous anaphylaxis; SRS-A, slow reacting substance of anaphylaxis; TXA_2, thromboxane A_2

抗 OA 血清を OA 吸入と同時に経静脈的に補うことにより LBR が発現するかどうかを検討した．またこの気道収縮反応に対するステロイドおよび抗ヒスタミン剤，トロンボキサンA_2(thromboxane A_2, TXA_2) 合成阻害剤，5-リポキシゲナーゼ選択的阻害剤，血小板活性化因子 (platelet activating factor, PAF) 拮抗剤，等の化学伝達物質阻害剤の影響についても検討し興味ある結果を得た．

対象および方法

Ⅰ．実験動物

体重250－350g の Hartley 系雄モルモット (三共ラボ，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 °C，湿度55± 5 %) で 1 週間以上飼育し肉眼的観察により健常なものを実験に供した．

Ⅱ．実験装置及び動物の処置

実験装置のブロックダイアグラムを図 1 に示した．

ネンブタール溶液 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ニューレを装着し，小動物用従量式レスピレーター 1680 (Harvard 社製，Southnatick, 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．1 回換気量は 10ml/kg，換気回数は毎分60回とした[19]．装置の死腔は 0.5ml である．気道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[20]．気道反応は抗原吸入直前の 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．抗血清ないし正常血清の静脈内投与 (静注) は頸静脈内に留置したカテーテルを介して行った．抗原の吸入投与は南ら[19]が開発した小動物用定量式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秒間吸入負荷した．エアゾールの発生量は15.2μ l/分であり，その46.1%がモルモットの肺に沈着する．薬物の腹腔内投与および経口投与は著者らが開発した腹腔内投与器および胃ゾンデを用いて確実に定量的に投与した．

Ⅲ．使用薬物

使用した薬物は以下のとおりである．すなわち，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.)，リン酸デキサメサゾン (和光，大阪)，OKY-046 (キッセイ薬品，長野より提供)，E6080 (エーザイ，東京より提供)，Y24180 (吉富薬品，大阪より提供)，ネンブタール溶液 (Abbott Laboratories, Chicago, U.S.A.)，ジフェンヒドラミン (diphenhydramine HCl, DPH) (Sigma).

Ⅳ．抗原吸入と同時に抗血清を静注して発現する遅発型気道収縮反応

1．モルモットの抗卵白アルブミン血清 (抗 OA 血清) の作製

Santives ら[21]の方法に従って抗 OA 血清を作成した．総量500μg の OA を CFA 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 ケ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．更に 2 週間後採血し，血清を分離し，同一容器にあつめて均一化した後，小スピッツに分注して－20°Cで凍結保存した．作製した抗 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)[22]は各々12800倍，6400倍および512倍であった．なお正常血清は無感作モルモットより同様の方法で採血保存した．

2．遅発型気道収縮反応とステロイドの影響

生理食塩水で溶解した 10mg/ml の OA 溶液を30秒間吸入負荷し，それと同時に抗 OA 血清 3ml/kg を30秒かけて静注した．その後 Pao の変化を 8 時間観察した．

1）ステロイド投与群

体重430－510g のモルモット 8 匹を用いた．生理食塩水で 10mg/ml に調整したリン酸デキサメサゾン 2ml/kg (20mg/kg) を OA 吸入12－16時間前に腹腔内投与し，さらに OA 吸入15分前にも同量投与した．

2）対照群

体重430－500g のモルモット 7 匹を用い，生理食塩水 2ml/kg を OA 吸入12－16時間前および15分前に腹腔内投与した．

3）正常血清群

体重440－520g のモルモット 7 匹を用いた．正常血清 3ml/kg を静注投与した以外は対照群と全く同様に実験を行った．

Ⅴ．遅発型気道収縮反応に対する抗ヒスタミン剤の影響

OA 吸入15分前に DPH 20mg/kg を腹腔内投与し，以後は対照群と全く同様に実験を行った．

1．抗ヒスタミン剤投与群

体重400－520g のモルモット 6 匹を用い，生理食塩水で 10mg/ml の濃度とした DPH 2ml/kg (20mg/kg) を OA 吸入15分前に腹腔内投与した．

2．対照群

体重410－490g のモルモット7匹を用い，生理食塩水 2ml/kg を OA 吸入15分前に腹腔内投与した．

Ⅵ．抗ヒスタミン剤処置後の遅発型気道収縮反応に対する化学伝達物質阻害剤の影響

1．TXA_2合成酵素阻害剤の影響

TXA_2合成酵素の選択的阻害剤 OKY-046[23] 100mg/kg を OA 吸入1時間前に腹腔内投与して，抗ヒスタミン剤処置後の遅発型気道収縮反応に及ぼす影響を観察した．抗ヒスタミン剤は DPH 20mg/kg を OA 吸入15分前に腹腔内投与した．

1）OKY-046 投与群

体重400－500g のモルモット6匹を用い，生理食塩水で 50mg/ml に調整した OKY-046 2ml/kg (100mg/kg) を OA 吸入1時間前に腹腔内投与した．

2）対照群 (DPH 群)

体重400－500g のモルモット6匹を用い，生理食塩水 2ml/kg を OA 吸入1時間前に腹腔内投与した．

2．5-リポキシゲナーゼ阻害剤の影響

5-リポキシゲナーゼの選択的阻害剤である E6080 200mg/kg を OA 吸入1時間前に腹腔内投与して，DPH 処置後の遅発型気道収縮反応に及ぼす影響を観察した．DPH は OA 吸入15分前に 20mg/kg 腹腔内投与した．

1） E6080 投与群

体重400－500g のモルモット6匹を用い，生理食塩水で 100mg/ml に調整した E6080 2ml/kg (200mg/kg) を OA 吸入1時間前に経口投与した．

2）対照群 (DPH 群)

体重400－500g のモルモット6匹を用い，生理食塩水 2ml/kg を OA 吸入1時間前に経口投与した．

3．血小板活性化因子拮抗剤の影響

PAF の特異的拮抗剤である Y24180 100mg/kg を OA 吸入1時間前に腹腔内投与して，DPH 処置後の遅発型気道収縮反応に及ぼす影響を観察した．DPH は OA 吸入15分前に 20mg/kg を腹腔内投与した．

1） Y24180 投与群

体重430－530g のモルモット6匹を用いた．5％メチルセルロースで 50mg/ml に溶解した Y24180 2ml/kg (100mg/kg) を OA 吸入1時間前に経口投与した．

2）対照群 (DPH 群)

体重400－500g のモルモット6匹を用い，5％メチルセルロース 2ml/kg を OA 吸入1時間前に経口投与した．

Ⅶ．即時型気道収縮反応に対する血小板活性化因子拮抗剤の影響

1．受身感作

抗 OA 血清 1ml/kg をモルモットの腹腔内に正確に注入して受身的に感作した．

2．抗原吸入時の即時型気道収縮反応

受身感作の12－24時間後に実験を行った．DPH 60mg/kg を腹腔内投与した後[18]，15分後に生理食塩水で溶解した 10mg/ml の OA 溶液を30秒間吸入負荷し，Pao の変化を20分間観察した．

1） Y24180 投与群

体重430－460g のモルモット4匹を用いた．5％メチルセルロースで 50mg/ml に溶解した Y24180 2ml/kg (100mg/kg) を OA 吸入1時間前に経口投与した．

2）対照群

体重430－460g のモルモット4匹を用い，5％メチルセルロースで 2ml/kg を OA 吸入1時間前に経口投与した．

Ⅷ．評　価

吸入によるモルモットの気道収縮反応は個体差が大きいため，抗 OA 血清投与 (対照) 群と正常血清群および各種薬剤投与群との比較は，二元配置分散分析法 (F-test) の後 Tukey-Kramer 多重比較を用いて気道収縮反応曲線を全体として検定し，更に吸入後の各時間ごとの検定を行った．両側検定で危険率5％以下を有意差有りと判定した．

成　績

Ⅰ．抗原吸入と同時に抗血清を静注して発現する遅発型気道収縮反応とステロイドの影響

抗 OA 血清静注投与群 (対照群) の Pao 実測例を示す (図2－A)．時間経過に伴い Pao は上昇傾向であるが，途中でピークを形成するのが特徴的であった．またそのピークは全て2.5－8時間の間に存在し，ピークは一峰性～多峰性のものまで様々であった．Pao のピークのうち2.5時間以降でピークを形成し，このピーク値が OA 吸入直前の Pao (基準値) の2.5倍 (増加率150％) 以上示すものを遅発型気道収縮反応 (LBR) 陽性と定義した．一方，正常血清群の Pao 実測例 (図2－B) では，時間経過と共に Pao はわずかに上昇傾向であるが，途中でピークを形成するものは1例も認めなかった．また Pao の最高値が基準値の2.5倍以上示すものも存在しなかった．すなわち，LBR 陽性例は対照群7匹中7匹，正常血清群7匹中0匹であった．Pao の OA 吸入直前値 (基準値) は，対照群では9.8±0.4cmH_2O (平均値±標準誤差)，正常血清群では9.1±0.5cmH_2O であり，両群間に有意差を認めなかった．次に基準値に対する抗原吸入後1時間毎の

Pao の増加率 (%Pao) の推移および2.5時間以降での最高値 (ピーク値) の増加率を示す (図3). 正常血清群と対照群での増加はそれぞれ, 1時間値23±3%, 99±26%, 2時間値33±5%, 120±15%, 3時間値39±5%, 149±29%, 4時間値39±2%, 124±11%, 5時間値43±2%, 169±8%, 6時間値49±4%, 185±18%, 7時間値54±4%, 243±60%, 8時間値58±5%, 213±32%, ピーク値68±3%, 392±102%であ

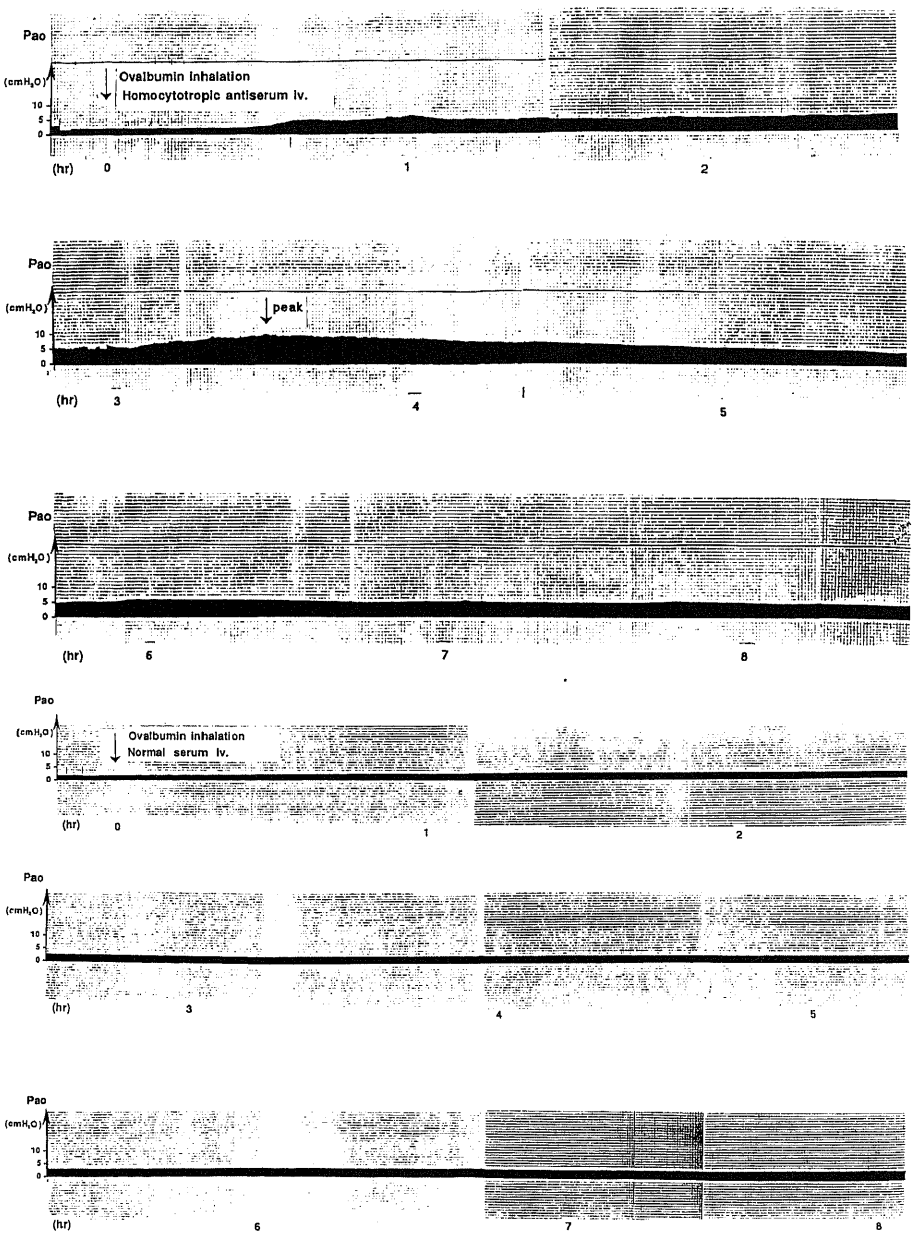

Fig. 2. Examples of the time course of pressure at the airway opening (Pao) in artificially ventilated guinea pigs administered homocytotropic antiserum (A, upper) or normal serum (B, lower) intravenously immediately after the antigen inhalation. Pao clearly increased 2.5 to 8 hr after the antigen inhalation and reached 2.5 times baseline value in the antiserum-administered animal.

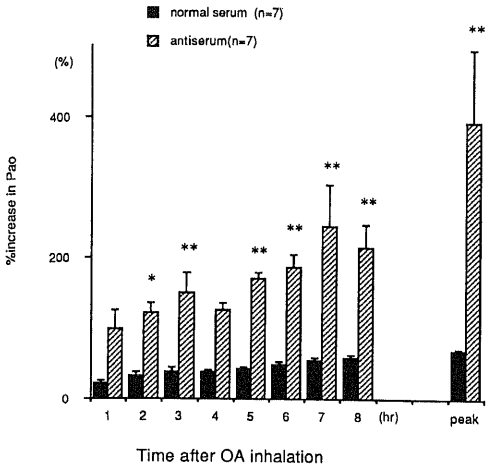

Fig. 3. Time course and peak value of percent increase in Pao after antigen inhalation in artificially ventilated guinea pigs administered homocytotropic antiserum or normal serum intravenously immediately after the antigen inhalation. Each bar represents mean±SE of 7 aminals in each group. *p<0.05, **p<0.01 vs normal serum group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

り，2時間値 (p<0.05)，3時間値 (p<0.01)，5時間値 (p<0.01)，6時間値 (p<0.01)，7時間値 (p<0.01)，8時間値 (p<0.01)，およびピーク値 (p<0.01) で有意差を認めた．ピーク値における正常血清群に対する対照群の増加率は479%であった．また反応曲線全体としても p<0.01で有意差を認めた．ステロイド投与群においては LBR 陽性例は8匹中3匹であった．ステロイド投与群では基準値は9.3±0.2 cmH_2O であり，正常血清群および対照群との差は認めなかった．ステロイド投与群の抗原吸入後1時間毎の Pao の増加率の推移および2.5時間以降での最高値 (ピーク値) の増加率は，1時間値60±18%，2時間値99±15%，3時間値111±10%，4時間値114±5%，5時間値119±9%，6時間値113±6%，7時間値117±60%，8時間値128±6%，ピーク値176±31%だった．対照群との比較では (図4)，ステロイド投与群は対照群に比べ7時間値 (p<0.01) およびピーク値 (p<0.01) で有意に低値であり，ピーク値における抑制率は54.3%であった．反応曲線全体としても両群間には p<0.01で有意差を認めた．

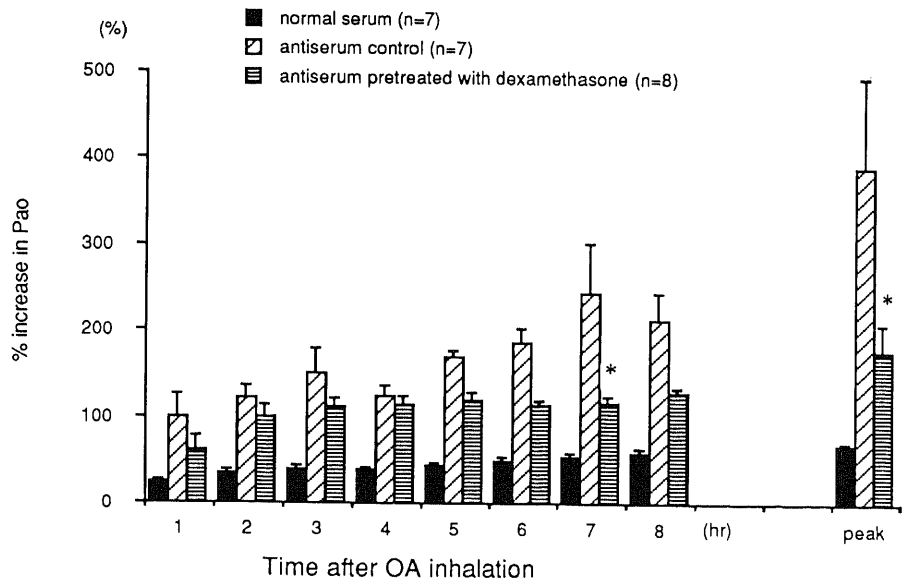

Fig. 4. Inhibitory effect of dexamethasone on late bronchial response induced by homocytotropic antiserum administered immediately after the antigen inhalation in guinea pigs. Each bar represents mean±SE. *p<0.01 vs control (antiserum) group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

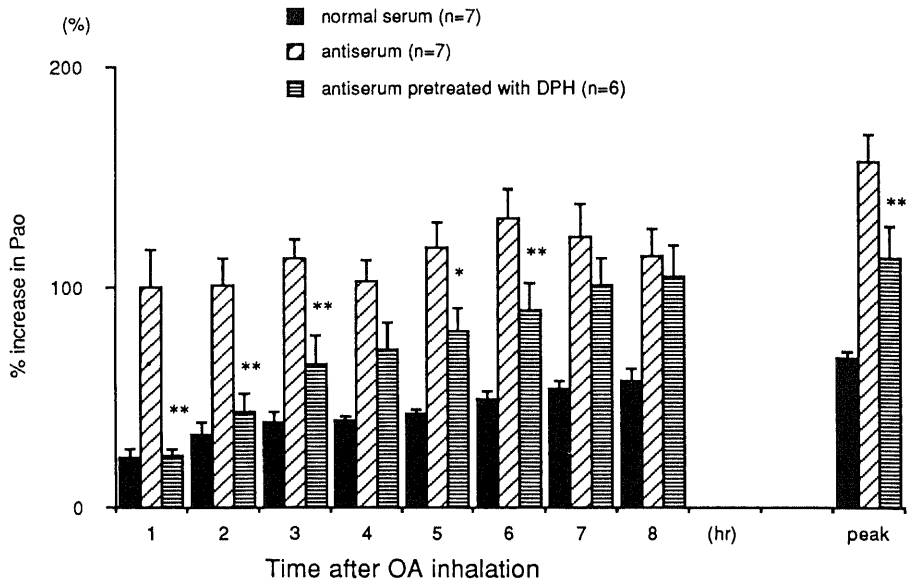

Fig. 5. Time course and peak value of percent increase in Pao after antigen inhalation in artificially ventilated guinea pigs administered homocytotropic antiserum intravenously with or without pretreatment of diphenhydramine. Each bar represents mean±SE. $^{*}p<0.05$, $^{**}p<0.01$ vs antiserum group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

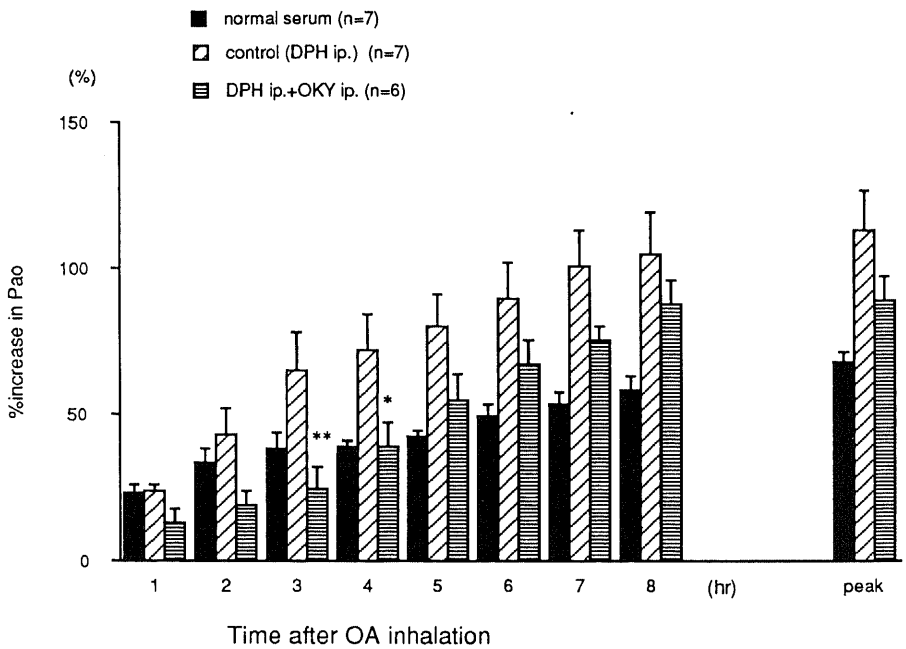

Fig. 6. Inhibitory effect of OKY-046 on late bronchial response induced by homocytotropic antiserum administered immediately after the antigen inhalation in guinea pigs. The animals were pretreated with diphenhydramine (DPH). Each bar represents mean±SE of 6 animals in each group. $^{*}p<0.05$, $^{**}p<0.01$ vs control (DPH pretreated) group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

II．遅発型気道収縮反応に対する抗ヒスタミン剤の影響

抗ヒスタミン剤投与群では LBR 陽性例は6匹中1匹であった．対照群では LBR 陽性例は7匹中4匹であった．次に抗原吸入後1時間毎の Pao の増加率およびピーク値の増加率を示す (図5)．対照群と抗ヒスタミン剤投与群での増加はそれぞれ，1時間値100±17%，24±2%，2時間値101±12%，43±9%，3時間値113±9%，65±13%，4時間値103±9%，72±12%，5時間値118±11%，80±11%，6時間値131±13%，90±12%，7時間値123±15%，101±12%，8時間値114±12%，105±14%，ピーク値157±12%，113±14%であり，抗ヒスタミン剤投与群は対照群にくらべて Pao の増加が，1時間値 ($p<0.01$)，2時間値 ($p<0.01$)，3時間値 ($p<0.01$)，5時間値 ($p<0.05$)，6時間値 ($p<0.01$)，およびピーク値 ($p<0.01$) で有意に抑えられる傾向にあった．ピーク値の抑制率は28.0%であった．また反応曲線全体としても両群間に $p<0.01$で有意差を認めた．

III．抗ヒスタミン剤処置後の遅発型気道収縮反応に対する化学伝達物質阻害剤の影響

1．TXA_2合成酵素阻害剤の影響

OKY-046 投与群では LBR 陽性例は6匹中1匹であった．対照群 (DPH 群) では LBR 陽性例は7匹中4匹であった．次に抗原吸入後1時間毎の Pao の増加率およびピーク値の増加率を示す (図6)．OKY-046 投与群と対照群での Pao の増加率はそれぞれ，1時間値13±5%，24±2%，2時間値19±5%，43±9%，3時間値25±7%，65±13%，4時間値39±8%，72±12%，5時間値55±9%，80±11%，6時間値67±8%，90±12%，7時間値75±5%，101±12%，8時間値88±8%，105±14%，ピーク値89±8%，113±14%であり，OKY-046 投与群は対照群にくらべて Pao の増加が，3時間値 ($p<0.01$)，4時間値 ($p<0.05$) で有意に抑えられる傾向にあった．ピーク値は有意差を認めなかったが，その抑制率は21%で抑制傾向を認めた．また反応曲線全体としても $p<0.01$で両群間に有意差を認めた．

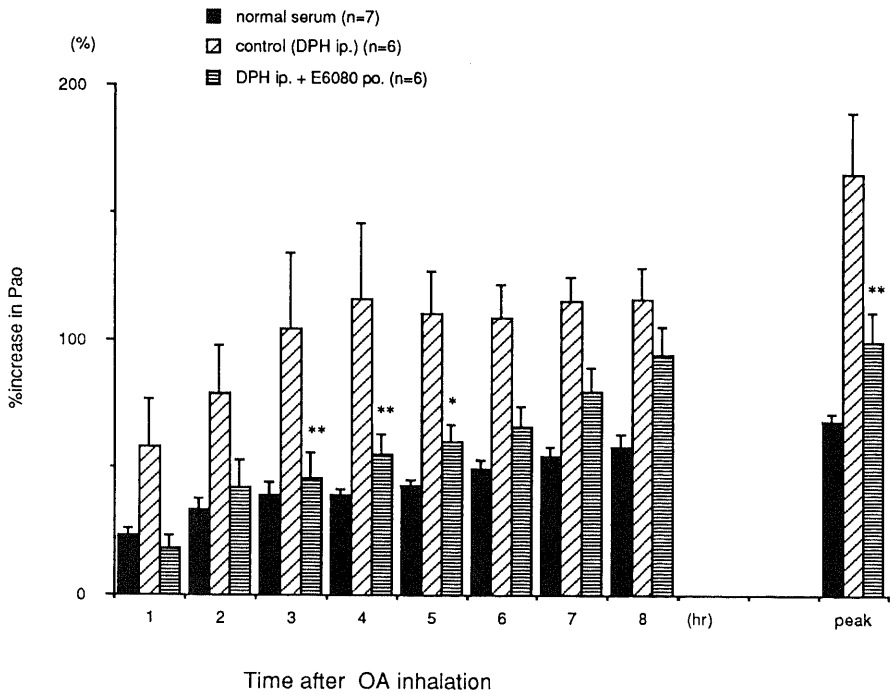

Fig. 7. Inhibitory effect of E6080 on late bronchial response induced by homocytotropic antiserum administered immediately after the antigen inhalation in guinea pigs. The animals were pretreated with diphenhydramine. Each bar represents mean±SE of 6 animals in each group. *$p<0.05$, **$p<0.01$ vs control (DPH pretreated) group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

2．5-リポキシゲナーゼ阻害剤の影響

E6080 投与群では LBR 陽性例は 6 匹中 0 匹であった．対照群 (DPH 群) では LBR 陽性例は 6 匹中 3 匹であった．次に抗原吸入後 1 時間毎の Pao の増加率およびピーク値の増加率を示す (図 7)．E6080 投与群との対照群での Pao の増加率はそれぞれ，1 時間値18±5％，58±19％，2 時間値42±11％，79±19％，3 時間値46±10％，104±30％，4 時間値55±8％，116±30％，5 時間値60±7％，110±17％，6 時間値66±8％，109±13％，7 時間値80±5％，115±10％，8 時間値94±11％，116±12％，ピーク値99±12％，165±24％であり，E6080 投与群は対照群にくらべて Pao の増加が，3 時間値 ($p<0.01$)，4 時間値 ($p<0.01$)，5 時間値 ($p<0.05$) およびピーク値 ($p<0.01$) で有意に抑制されていた．ピーク値の抑制率は 40.0％であった．また反応曲線全体としても $p<0.01$ で両群間に有意差を認めた．

3．血小板活性化因子拮抗剤の影響

Y24180 投与群のうち LBR 陽性例は 6 匹中 1 匹であった．対照群 (DPH 群) では LBR 陽性例は 6 匹中 3 匹であった．次に抗原吸入後 1 時間毎の Pao の増加率およびピーク値の増加率を示す (図 8)．Y24180 投与群と対照群での Pao の増加率はそれぞれ，1 時間値28±12％，58±19％，2 時間値72±23％，79±19％，3 時間値62±18％，104±30％，4 時間値59±17％，116±30％，5 時間値67±16％，110±17％，6 時間値75±18％，109±13％，7 時間値84±18％，115±10％，8 時間値94±18％，116±12％，ピーク値96±19％，165±24％であり，Y24180 投与群は対照群にくらべて Pao の増加が，4 時間値 ($p<0.05$) およびピーク値 ($p<0.05$) で有意に抑制されていた．ピーク値の抑制率は41.8％であった．また反応曲線全体としても $p<0.05$ で両群間に有意差を認めた．

V．抗原吸入時の即時型気道収縮反応

Pao は抗原吸入後 2 分前後に上昇し始め，7－10分で最大となりその後緩徐に下降した (図 9)．Pao の OA 吸入直前値 (基準値) は対照群では 9.4±0.2 cmH_2O，Y24180 投与群では 9.1±0.1 cmH_2O であり，両群間に差を認めなかった．Pao 基準値に対する OA 吸入後の Pao の増加率を経時的に図 9 に示した．

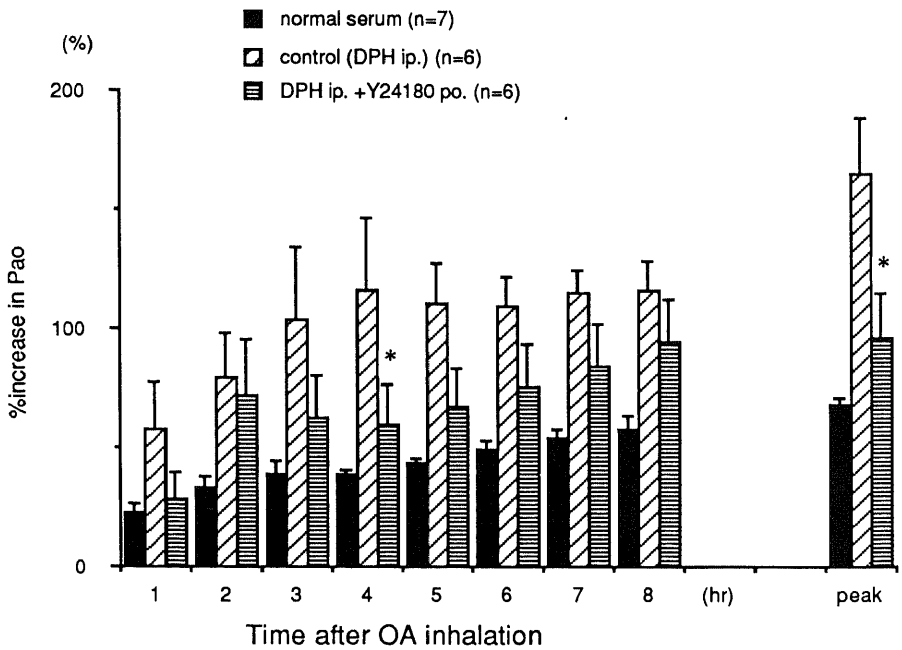

Fig. 8. Inhibitory effect of Y24180 on late bronchial response induced by homocytotropic antiserum administered immediately after the antigen inhalation in guinea pigs. The animals were pretreated with diphenhydramine. Each bar represents mean±SE of 6 animals in each group. *$p<0.05$ vs control (DPH pretreated) group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

対照群と Y24180 投与群では 3 分以降の全ての時間で有意差 ($p<0.05$) を認めた．Pao ピーク出現時間は対照群9.8±1.6分，Y24180 投与群13.0±1.6分で，統計学上有意差は認めなかった．Pao ピーク値は対照群416±106%，Y24180 投与群160±30%で $p<0.02$で有意差を認め，その抑制率は61.5%であった．

考　　察

近年，ヒト遅発型喘息反応 (LAR) の発現機序を解明する目的で気道の過敏性，気道の炎症，化学伝達物質などについて各種動物を用いた研究[7~9]が進められている．著者も今回モルモットを用いて遅発型気道収縮反応 (LBR) の発現の引き金として同種細胞親和性抗体の血中から気道局所への動員を仮定し，それを実証した．モルモットは抗原誘発によりヒト喘息に類似した症状を起こしやすいこと，感作により同種細胞親和性抗体 (immunoglobulin E, IgE, immunoglobulin G_1, Ig G_1) を産生すること，ショック標的臓器が気管支，肺であること[24]などよりヒト喘息と類似点が多く，即時型気道収縮反応の研究に多く用いられてきたが，近年 LBR に関した論文も増えてきている．趙ら[13]によれば，アスカリス抗原能動感作モルモットにおいて特異抗体および抗体産生細胞の変動推移を測定したところ，LBR の発現の時期が血中抗体価と IgE 産生細胞の最高値の時期に一致していたという．つまり能動感作において LBR の発現の時期には抗体産生細胞が増え，それに伴い血中に分泌される特異抗体量は飛躍的に増加すると考えられる．今回のモデルでは特別な前処置はないので，特異抗体を分泌する準備状態にある抗体産生細胞は存在しないと考えられる．すなわち正常血清投与群で LBR が全く認められず，抗 OA 血清投与群でのみ LBR を認めたという結果は，抗体産生細胞がなくとも経静脈的に補われた同種細胞親和性抗体が気道局所に動員された為の気道反応と考えて良いであろう．なお同種細胞親和性抗体についてはモルモットでは IgE および IgG_1があるが，抗原吸入能動感作の LBR モデルでは主に血中に IgG_1抗体が産生され IgE は検出されなかったという報告[15]がある．次に，今回のモデルでは前処置を行っていないことより，実験開始前より気道の炎症は存在していたとは考えられない．すなわち今回の実験結果は LBR 出現の準備状態として気道の炎症は必ずしも必要としないことも示唆している．今回の実験モデルの基礎となった斉藤ら[25]の LBR の報告では LBR 後の気管支肺胞洗浄液中の細胞分画中に好中球が有意に増加していることを指摘している．これは Ishii ら[14]のアスカリスを抗原として能動感作したモルモット実験モデルと一致した結果である．これについては推測ではあるが，ロイコトリエン B_4 (leukotriene B_4, LTB_4) や PAF といった好中球遊走化因子が即時型反応と同様に抗原抗体反応により放出された結果ではないかと考えている．それは後述する特異的 PAF 拮抗薬または 5-リポキシゲナーゼ選択的阻害剤を前投与した本モデルで LBR が抑制され，本反応に 5-リポキシゲナーゼ代謝系や PAF が関与しているという結果と関連している．また本モデルで LBR の発現時間はヒト喘息の LAR と比べて幾分早期に反応を認めているが，いわゆる即時型アレルギー反応とは明らかに異なる．また LBR の動物モデルでもその動物種や感作抗原などによって LBR の発現時間は様々である[7~9]ことより2.5－8時間という発現時間は矛盾しないと考えられた．また本モデルでは挿管しレスピレーターを装着しており，能動感作モデルのように明らかな喘鳴や咳嗽は認めなかったが，LBR の発現時期に一致して，チアノーゼをきたしたり重症のものでは死に至るものもあり，臨床上の喘息に近いモデルと考えられた．

ステロイドは喘息の治療に極めて有効であるが，臨床研究および動物実験においてステロイドは IAR を抑制せず，LAR を抑制することが明らかになっている[4]．そこで著者が開発した LBR の本モデルに対する

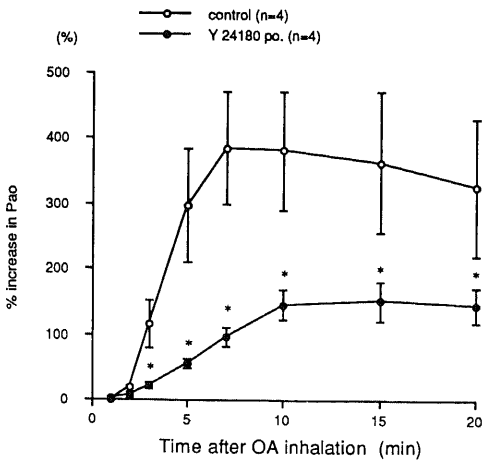

Fig. 9. Inhibitory effect of Y24180 on immediate bronchial response induced by antigen inhalation in passively sensitized guinea pigs. The animals were pretreated with diphenhydramine. Each point represents mean±SE of 4 animals in each group. *$p<0.05$ vs control group by two-way analysis of variance followed by Tukey-Kramer multiple comparisons.

ステロイドの効果を検討した．その結果，ステロイド(リン酸デキサメサゾン) は本モデルの LBR を有意に抑制し，前述の臨床および動物実験で報告されている成績と一致した．従って，本モデルは LBR を研究する上で有用なモデルであると考えられる．ステロイドの抗喘息作用の発現機序についてはアナフィラキシー遅延性反応物質 (slow reacting substance of anaphylaxis, SRS-A) の合成阻害作用[26]，LT C_4 に対する直接拮抗作用[27]，β_2 交感神経刺激の効果増強作用[28]などが試験管内実験で報告されている．しかしこれらのいずれの作用機序も IAR を抑制しなければならず，ステロイドが IAR に明らかな効果を示さないことと矛盾する．従って，気管支喘息とくに LAR に対するステロイドの抑制効果発現の機序は現在もなお不明と言わざるをえない．藤村[20]は受身感作モルモットでの抗原吸入誘発喘息時の SRS-A による気道反応がステロイドによりわずかに抑制されることを報告し，ステロイドの抗喘息効果発現までの lag time は18～24時間であると述べている．今回著者の LBR のモデルにおいて1回目のリン酸デキサメサゾン投与から効果発現までの lag time は20時間前後であり抗喘息効果発現までの lag time においてはほぼ一致している．

次に抗ヒスタミン剤については一般の臨床の場においては気管支喘息にほとんど無効であり，抗原吸入誘発テストに対して何ら影響を及ぼさない[29]のであるが，モルモットにおいては抗原吸入時の気道反応は大部分がヒスタミンによるものである[30]．今回のモデルでは抗原吸入後比較的初期 (1～3時間) から中期 (5～6時間) にかけて気道反応は抑えられ，LBR も有意に抑制された．このことより本反応の形成にヒスタミンの関与が大きいことは明らかであるが，抗原暴露後比較的早期にヒスタミンの遊離がおこること，すなわち吸入抗原と同種細胞親和性抗体が接し抗原抗体反応がある程度起こっていることを示唆している．

次に本モデルにおける種々の化学伝達物質の役割を明らかにするために，DPH を前処置してヒスタミンの影響を取り除いた実験系を用いて検討した．トロンボキサンA_2(TXA_2) はアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ代謝系の代謝産物の一つであり，強力な気管支収縮作用を有する[31]．また LAR との関連では，アトピー型喘息患者において LAR 発現時の血漿 TXB_2 量と LAR 時の一秒量低下率とが正の相関を示し，また OKY-046 投与により血漿 TXB_2 の低下と IAR および LAR の抑制を認めたことより LAR の誘導および発現に TXA_2 が重要な役割を演じているという報告[32]がある．今回の成績でも LBR は OKY-046 前投与により有意に抑制されることが示され，本反応系に TXA_2 が関与していることが示唆された．次に TXA_2 以外のアラキドン酸代謝産物に注目すると，5-リポキシゲナーゼを介する代謝産物の中に LTC_4, D_4, E_4 が主要な構成成分であるアナフィラキシー遅延性反応物質 (SRS-A) が含まれている．SRS-A は強力な気管支収縮物質であり，これはモルモットにおいても同様の作用を持つ[33]．またヒト喘息患者のハウスダスト抗原誘発試験後の LAR 発症後の BALF において LTC_4 および LTB_4 が増加したという報告[34]や，モルモット喘息モデルにおいて LTC_4 および D_4 に対して拮抗作用を持つ KC-404[16]の前投薬が即時型気道収縮反応の一部および LBR をほぼ完全に抑え，LBR の発現に LT が重要な役割を果たしていることが示唆されている．本研究では5-リポキシゲナーゼを選択的に阻害することにより LTC_4, D_4, E_4 また LTB_4 の産生を抑制する E-6080 を用いて本モデルの LBR に対する抑制効果をみた．結果は E-6080 の前投与により LBR は有意に抑制され，この反応に5-リポキシゲナーゼ代謝系が関与することが示唆された．

以上より LBR に関する本モデルにおいて TXA_2, 5-リポキシゲナーゼ代謝産物の関与が確かめられたが，LAR に関与する化学伝達物質では血小板活性化因子 (PAF) も無視できない重要な化学伝達物質の一つと考えられている．PAF は Benveniste ら[35]により IgE 感作ウサギ好塩基球から抗原刺激により遊離される血小板活性化因子として発見，命名された．近年，種々の標的臓器，細胞に対する PAF の生理活性が明らかになりつつある．試験管内実験や生体実験における LTC_4 や酸素フリーラジカルの産生[36]，血管内皮細胞の粘着の増強[37]，また好酸球との細胞表面上受容体を介した相互作用[38]等が報告されている．有馬ら[11]は，能動感作モルモットモデルにおいて PAF の特異的拮抗薬である WEB2086 が LAR を抑えたが，IAR には影響を及ぼさないことを示した．本研究では WEB より活性が強く，かつ持続性の長い特異的 PAF 拮抗薬である Y24180 を使用した．結果は本モデルの LBR が有意に抑制されたことより，本反応に PAF が関与していることが示された．LAR に PAF が関与するという点では有馬らの報告と一致するが，今回の成績では即時型気道収縮反応のモデルに対しても Y24180 は有意に抑制することが示された．すなわち I 型アレルギー気道収縮反応にも PAF が強く関与していることが示され，有馬ら[11]の結果と異なるものとなった．彼らは PAF が遅発相での好酸球浸潤や活性化，更にそれに関連すると思われる LBR や気道過

敏性亢進に重要な役割を担っていると報告しているが，今回の成績は気道に必ずしも好酸球浸潤や炎症が存在しなくても，I型アレルギー反応によって肥満細胞，好塩基球，または血管内皮細胞などから産生されるPAF自体が気道収縮を起こし，このPAFによる気道収縮が本モデルのLBRにも大きく関与していることが示唆された．

結　論

モルモット実験モデルにおいて，抗原吸入暴露と同時に抗血清を静脈内投与することにより，2.5～8時間後に起こる遅発型気道収縮反応(LBR)が発現された．このLBRに対しステロイドおよび種々の化学伝達物質阻害剤を投与してその影響を検討し，以下の結論を得た．

1．正常血清投与群ではLBRは一例も発現しなかったが，抗血清投与群ではLBRは全例で発現した．

2．ステロイドであるリン酸デキサメサゾン腹腔内前投与によりLBRは有意に抑制された．

3．抗ヒスタミン剤であるジフェンヒドラミン(DPH)の腹腔内前投与により，抗原暴露後比較的初期から中期にかけて気道反応は抑えられ，LBRも有意に抑制された．

4．DPHを前処置したモデルにおいて，TXA_2合成阻害剤であるOKY-046の腹腔内前投与によりLBRは有意に抑制された．

5．DPHを前処置したモデルにおいて，5-リポキシゲナーゼ選択的阻害剤であるE6080の内服前投与によりLBRは有意に抑制された．

6．DPHを前処置したモデルにおいて，特異的なPAF拮抗薬であるY24180の内服前投与によりLBRは有意に抑制された．

7．受動感作モルモットでの抗原吸入時の即時型気道収縮反応は特異的PAF拮抗剤であるY24180の内服前投与により有意に抑制された．

以上よりLBR発現の引き金として同種細胞親和性抗体の血中から気道局所への動員が重要な役割を果たすことが示され，また気道の炎症は必ずしも必要でないことが示唆された．また本反応にステロイドが有効であること，またヒスタミンの影響を除いた反応系においてTXA_2, 5-リポキシゲナーゼ代謝系，PAFが関与することが示され，我々のLBRの実験モデルはヒト喘息のLARに類似していると考えられた．今後この実験モデルにおいて更に詳細な検討を行ってゆくことがLARの発現機序の究明につながると期待できる．

謝　辞

稿を終えるに臨み，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，御校閲をいただいた藤村政樹講師に深甚なる謝意を表します．また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致します．さらに統計学的検討について貴重なる御助言を戴きました金沢大学医学部衛生学教室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39回日本アレルギー学会総会，第31回日本胸部疾患学会総会において発表した．

文　献

1) **Coombs, R. R. A. & Gell, P. G. H.;** Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. *In* P. G. H. Gell, R. R. A. Coombs & P. J. Lachmann (eds), Clinical Aspects of Immunology, 3rd ed., p761-780, Blackwell Scientific Publication, Oxford 1975.

2) **Herxheimer H.:** The late bronchial reaction in induced asthma. Int. Arch. Allergy, **3**, 323-328 (1952).

3) **O'Byrne, P. M., Dolovich, J. & Hargreave, F. E.:** State of art, Late asthmatic response. Am. Rev. Respir. Dis., **136**, 740-751 (1987).

4) **Pepys, J. & Hutchcroft, B. J.:** Bronchial provocation tests in etiologic diagnosis and analysis of asthma. Am. Rev. Respir. Dis., **112**, 829-858 (1975).

5) **Cartier, A., Thomson, N. C., Frith, P. A., Roberts, B. S. R., Tech, M. & 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).

6) **De Monchy, J. G. R., Kauffmann, H. K., Venge, P., Koeter, G. H., Jansen, H. M., Sluiter, H. J. & De Vries, K.:** Bronchalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. Am. Rev. Respir. Dis., **131**, 373-376 (1985).

7) **Shampain, M. P., Behrens, B. L., Larsen, G. L. & Henson, P. M.:** An animal model of late pulmonary response to alternaria challenge. Am. Rev. Respir. Dis,. **126**, 493-498 (1982).

8) **Sasaki, H., Yanai, M., Shimura, S., Okayama, H., Aikawa, T., Sasaki, T. & Takisima, T.:** Late asthmatic response to ascaris antigen challenge in dogs treated with metyrapone. Am. Rev. Respir. Dis., **136**, 1459-1465 (1987).

9) **Eidelman, D. H., Bellofiore, S. & Martin, J. G.:** Late airway response to antigen challenge in sensitized inbred rats. Am. Rev. Respir. Dis., **137,** 1033-1037 (1988).

10) **友岡真樹，宮崎直樹，相沢久道，重松信昭：** Histamin, Leukotriene C_4, Platelet Activating Factor による気道攣縮に対する Azelastine の抑制効果．アレルギー，**37,** 213-217 (1988).

11) **有馬雅史，湯川龍雄，寺師義典，相良博典，牧野荘平：** モルモット実験モデルにおける遅発型反応と気道過敏性亢進に及ぼす WEB2086 の影響．アレルギー，**40,** 141-146 (1991).

12) **Takisima, T., Yamauchi, K., Ishii, M., Chao, C. L., Iijima, H., Shimura, S., Shindou, Y., Inoue, H. & Mue, S.:** Late pulmonary response in guinea pigs after ascaris challenge. Touhoku J. Exp. Med., **146,** 121-122 (1985).

13) **趙 崇良，石井宗彦，飯島秀弥，山内広平，田村弦，無江季次，滝島 任：** アスカリス抗原感作モルモットにおける特異抗体及び抗体産生細胞の変動に関する研究，アレルギー，**37,** 94-98 (1988).

14) **Iijima, H., Ishii, M., Yamauchi, K., Chao, C. L,. Kimura, K., Shimura, S., Shindoh, Y., Inoue, H., Mue, S. & Takishima, T.:** Bronchoalveolar lavage and histological characterization of late phase pulmonary response in guinea pig. Am. Rev. Respir. Dis., **136,** 922-929 (1987).

15) **星野 博，小林秀樹，金野真一，岡沢 明，岡田陽子，菅沼孝夫，丸山 繁，足立 満，高橋昭三：** モルモット遅発型気管支反応発現のメカニズム及び気道反応亢進との関連について，アレルギー，**38,** 314-325 (1989).

16) **Nishino, K., Ohashi, M., Hara, S., Kito, J. & Irikura, T.:** KC-404: A potential antiallergic agent with antagonistic action against slow reacting substance of anaphylaxis. Jpn. J. Pharmacol., **33,** 267-278 (1983).

17) **湯川龍雄，寺師義典，福田 健，牧野荘平，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，**36,** 227-237 (1987).

18) **Behrens, B. L., Clark, R. A. F., Marsh W. & Larsen G. L.:** Modulation of the late asthmatic response by antigen-specific immunoglobulin G in an animal model. Am. Rev. Respir. Dis., **130,** 1134-1139 (1984).

19) **南 真司，岡藤和博，佐賀 務，藤村政樹，金森一紀，井川 清：** モルモットにおける定量式吸入負荷装置の開発．日胸疾会誌，**21,** 252-258 (1983).

20) **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一抗原および leukotriene C_4 の吸入負荷を用いての検討．アレルギー，**32,** 365-375 (1983).

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

22) **Watanabe, N. & Ovary, Z.:** Antigen and antibody detection by in vivo methods: A reevaluation of passive cutaneous anaphylactic reactions. J. Immunol. Methods, **14,** 381-390 (1977).

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

24) **Kallos, P. & Kallos, L.:** Experimental asthma in guinea pigs revisited. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., **73,** 77-85 (1985).

25) **斉藤元泰，藤村政樹，三宅 靖，坂本さゆり，安井正英，松田 保：** 同種細胞親和性抗体の動員による Late asthmatic response の発現 アレルギー，**40,** 82-86 (1991).

26) **Forsberg, K. & Soerenby, L.:** The influence of a new corticosteroid, budesonide, on anaphylactic bronchoconstriction and SRS-A release in the guinea pig. Agents Actions, **11,** 391-395 (1981).

27) **青木秀夫，近藤忠徳，根本俊和，須永吉信，桑原英真，田中哲治，笛木隆三，小林節雄：** leukotriene C_4 の気管支収縮作用に対するステロイドの効果 日胸疾会誌，**20,** 55-55 (1982).

28) **Scarpace, P. J. & Abrass, I. B.:** Glucocorticoid regulation of lung beta-adrenergic receptors. Drug Dev. Res., **2,** 91-94 (1982).

29) **Altounyan, R. E. C.:** Variation of drug action on airway obstruction in man. Thorax, **19,** 406-415 (1964).

30) **南 真司，佐賀 務，越野 健，藤村政樹，岡藤和博，石崎武志，宮保 進：** モルモットにおける抗原吸入時の気道収縮に対する抗ヒスタミン剤，抗

SRS-A 剤の拮抗作用の検討．アレルギー，**31**, 820 (1982).

31) **Svensson, J., Strandberg, K., Tuvemo, T. & Hamberg, M.:** Thromboxane A_2: effects on airway and vascular smooth muscle. Prostaglandins, **14**, 425-436 (1977).

32) **岩本逸夫，羅智　靖，佐藤俊子，富岡玖夫，吉田尚：**アレルゲン吸入誘発即時型及び遅発型喘息反応におけるトロンボキサンA_2産生．アレルギー，**35**, 437-446 (1986).

33) **Weichman, B. M., Muccitelli, R. M., Osborn, R. R., Holden, D. A., Gleason, J. G. & Wasserman, M. A.:** In vitro and in vivo mechanisms of leukotriene-mediated bronchoconstriction in the guinea pig. J. pharmacol. Exp. Therap., **222**, 202-208 (1982).

34) **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，木村郁郎，谷崎勝朗：**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).

35) **Benveniste, J., Henson, P. M. & Cochrane, C. G.:** Leukocyte dependent histamine release from rabbit platelets: the role of IgE, basophils and a platelet activating factor. J. Exp. Med., **136**, 1356-1377 (1972).

36) **Bruynzeel, P. L. B., Koenderman, L., Kok, P. T. M., Hameling, M. L. & Verhagen, J.:** Platelet-activating factor (PAF-acether) induced leukotriene C_4 formation and luminol dependent chemiluminescence by human eosinophils. Pharmacol. Res. Commun., **18**, 61-69 (1986).

37) **Kimani, G., Tonnesen, M. G. & Henson, P. M.:** Stimulation of eosinophil adherence to human vascular endothelial cells in vitro by platelet-activating factor. J. Immunol., **140**, 3161-3166 (1988).

38) **Ukena, D., Kroegel, C., Dent, G., Yukawa, T., Sybrecht, G. & Barnes, P. J.:** PAF-receptors on eosinophils: Identification with a novel ligand, [^{3}H] WEB2086. Biochem. Pharmacol., **38**, 1702-1794 (1989).

Effect of Steroid and Chemical Mediator Inhibitors on Late Bronchial Response Induced by Recruitment of Homocytotropic Antibodies from Circulating Blood into Airways

Hiromoto Shintani, Department of Internal Medicine (Ⅲ), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920－J. Juzen Med Soc., **100**, 788－802 (1991)

Key words late asthmatic response, late bronchial response, homocytotropic antibody, chemical mediator inhibitors, guinea pigs

Abstract

In bronchial asthma, not only the immediate asthmatic response (IAR), which occurs immediately after antigen inhalation, but also the late asthmatic response (LAR), which occurs 4 to 12 hr after recovery of IAR, have been of much interest. The study of LAR is considered to be important in the clarification of the mechanisms of chronic and severe types of asthma. An experimental study using a guinea pig model for asthma was designed to investigate the pathogenetic mechanisms of LAR. Antiserum containing a homocytotropic antibody was administered intravenously to a non-sensitized animal immediately after antigen inhalation. 2.5 to 8 hr after antigen inhalation, late bronchial response (LBR) was observed. Furthermore, the effects of steroid and chemical mediator inhibitors on LBR were studied in this model. When dexamethasone phosphate was intraperitoneally administered 12-16 hr before inhalation of antigen, LBR was inhibited significantly. When diphenhydramine HCI (DPH) was intraperitoneally administered, the allergen-induced bronchoconstriction was significantly suppressed from the early phase before LBR and after LBR. Under the pretreatment with

DPH, the effects of three drugs on LBR were examined, as follows: OKY-046, as a selective thromboxane A_2 (TXA_2) synthetase inhibitor; E6080, as a selective 5-lipoxygenase inhibitor; and Y24180, as a selective platelet activating factor (PAF) antagonist. By the oral administration of OKY-046 1 hr before antigen inhalation, LBR was significantly suppressed. When E6080 or Y24180 was orally administered 1 hr before antigen inhalation, LBR was also inhibited. The administration of Y24180 also inhibited the immediate type of bronchoconstriction induced by antigen inhalation. These findings indicate that recruitment of homocytotropic antibodies from circulating blood into airways might play an important role as a direct initiator of LBR and that TXA_2, 5-lipoxygenase products of arachidonic acid and PAF may be involved in the development of LBR. It is concluded that this guinea pig experimental model for LBR is useful in further studies into the mechanisms of LAR.