

アラキドン酸代謝産物静脈内投与によるモ
ルモット気道過敏性形成とその機序に関す
る基礎的研究

1997

丸 田 隆

①

筑波大学

博士（医学）学位論文

筑波大学

アラキドン酸代謝産物肺内投与によるモルモット気道過敏性形成とその機序に関する基礎的研究

1997年

筑波大学付属病院呼吸器外科

淀縄 聡

①

筑波大学
博士（医学）学位論文

アラキドン酸代謝産物静脈内投与によるモ
ルモット気道過敏性形成とその機序に関す
る基礎的研究

1997年

筑波大学付属病院呼吸器外科

淀縄 聡

論文概要

【目的】 気管支喘息の特徴的病態である気道過敏性形成に対するアラキドン酸代謝産物の関与を明らかにするため、アラキドン酸代謝産物をモルモット静脈内に持続投与し、ヒスタミンに対する気道反応性の変化について検討した。さらに、ロイコトリエン (LT)、トロンボキサン (TX) A_2 受容体拮抗薬の効果について検討し、気道内におけるプロスタノイド受容体の作用機序を推定した。気道過敏性の評価法として、気道粘膜浮腫の影響を除外し気道平滑筋の収縮率を気道過敏性の指標と考えることを可能にする式を用いた。

【方法】 Hartley系雄性モルモット (350~450g) を人工呼吸器で強制換気を行い、頸静脈からアラキドン酸代謝産物を気管支収縮作用を起こさない低濃度 (LT C_4 、LT D_4 は1および3 μ g/kg、9 α ,11 β -PGF $_2$ 、13,14-dihydro-15-keto-PGF $_{2\alpha}$ は10 μ g/kg) を1時間持続投与した。対照群には生理的食塩液を用いた。薬物投与前後にヒスタミンを静脈内投与し気管支を収縮させ、気道抵抗値を測定した。LT受容体拮抗薬ONO-1078は静脈内前投与、TX A_2 受容体拮抗薬ONO-NT-126は静脈内前投与、ONO-8809は胃管内前投与し、各群 n=6とした。気道過敏性の評価には共同研究者の塚越らが報告した式、Proportion of airway wall thickness [$PW_1=1-\{(1-PW_0)/\sqrt{Raw_1/Raw_0}\}$]、Percentage of airway smooth muscle shortening(PMS)比 [$PMS_1/PMS_0=1-\sqrt{\{(1-PW_1)/\sqrt{Raw_{1c}/Raw_{1r}}+PW_1\}/1-\sqrt{\{(1-PW_0)/\sqrt{Raw_{0c}/Raw_{0r}}+PW_0\}}}$] を用い、それぞれ気道粘膜浮腫、気道過敏性の指標とした。気道粘膜浮腫は組織学的に証明するため中枢、末梢気管支横断面の組織標本を作製し、digitizerで測定した気道粘膜面積よりPWを算出し比較検討した。

【結果】 ①LT C_4 1および3 μ g/kg/hr投与後のPW $_1$ は0.230 \pm 0.017、0.286 \pm 0.020で対照群のPW $_0$ 0.201 \pm 0.004と比較し有意に増加した。LT D_4 、9 α ,11 β -PGF $_2$ 投与群でもPW $_1$ は対照群と比較し有意に増

加したが、13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与群の PW_1 は 0.210 ± 0.003 で対照群と比較し有意差を認めなかった。組織学的検討では、末梢気道において LTC_4 、 $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 投与は PW を増加させた。

② LTC_4 1および $3\mu\text{g/kg/hr}$ 投与後の PMS 比はヒスタミン $1.8\mu\text{g/kg}$ 投与で $512.5 \pm 110.0\%$ 、 $894.6 \pm 130.4\%$ で対照群の PMS 比 $93.0 \pm 5.2\%$ と比較し有意に増加し、ヒスタミン $3.6\mu\text{g/kg}$ 投与では $213.7 \pm 36.2\%$ 、 $655.6 \pm 184.8\%$ で対照群 $97.9 \pm 5.8\%$ と比較し有意に増加した。 LTD_4 、 $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 、13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ 投与群でも同様に PMS 比は対照群と比較し有意に増加した。

③ONO-1078前投与は LTC_4 および LTD_4 による PW_1 の増加を有意に抑制した。組織学的検討では末梢気道においてONO-1078前投与は LTC_4 、 LTD_4 による PW の増加を有意に抑制した。またONO-1078前投与は LTC_4 および LTD_4 による PMS 比の増加を有意に抑制した。

④ONO-NT-126およびONO-8809前投与は $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ による PW_1 の増加を有意に抑制した。さらにONO-NT-126およびONO-8809前投与は $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 、13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ による PMS 比の増加を有意に抑制した。

⑤ONO-NT-126およびONO-8809は LTC_4 による PMS 比の増加を部分的に抑制したが、 LTC_4 による PW_1 の増加は抑制しなかった。

【結論】① LTC_4 、 LTD_4 は LT 受容体を介してモルモット気道粘膜に浮腫を形成しヒスタミンに対する気道過敏性を亢進させた。

② $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ は TXA_2 受容体を介してモルモット気道粘膜に浮腫を形成しヒスタミンに対する気道過敏性を亢進させ、13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ は気道粘膜に浮腫を形成せず TXA_2 受容体を介してヒスタミンに対するモルモット気道過敏性を亢進させた。モルモット気道内には2つの TXA_2 受容体のサブタイプの存在が示唆された。

③ LTC_4 によるモルモット気道過敏性亢進の一部に TXA_2 受容体が関与することが示唆された。

目次

I	序論	1
1	気管支喘息における気道過敏性の関与	1
2	気道過敏性に関わる炎症細胞および化学伝達物質	1
3	アラキドン酸代謝産物と気道過敏性	5
4	本研究の目的	14
II	対象と方法	17
1	実験動物	17
2	使用薬物	17
3	実験方法	17
3-1	実験装置設定	
3-2	薬物投与方法	
3-3	肺機能測定方法	
3-4	気道過敏性測定法	
3-5	気道粘膜浮腫形成に対する組織学的検討	
3-6	統計処理法	
III	結果	33
1	アラキドン酸代謝産物静脈内持続投与の影響	33
1-1	生理的食塩液（対照群）静脈内持続投与	
1-2	LTC ₄ 静脈内持続投与	
1-3	LTD ₄ 静脈内持続投与	
1-4	9 α ,11 β -PGF ₂ 静脈内持続投与	
1-5	13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α} 静脈内持続投与	
2	LTC ₄ 、LTD ₄ に対するLT受容体拮抗薬の効果	49

2-1	LTC ₄ に対するONO-1078前投与の効果	
2-2	LTD ₄ に対するONO-1078前投与の効果	
3	9 α ,11 β -PGF ₂ に対するTXA ₂ 受容体拮抗薬の効果	59
3-1	9 α ,11 β -PGF ₂ に対するONO-NT-126前投与の効果	
3-2	9 α ,11 β -PGF ₂ に対するONO-8809前投与の効果	
4	13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α} に対するTXA ₂ 受容体拮抗薬の効果	67
4-1	13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α} に対するONO-NT-126前投与の効果	
4-2	13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α} に対するONO-8809前投与の効果	
5	LTC ₄ に対するTXA ₂ 受容体拮抗薬の効果	75
5-1	LTC ₄ に対するONO-NT-126前投与の効果	
5-2	LTC ₄ に対するONO-8809前投与の効果	
IV	考察	83
1	気道過敏性の機序	83
2	アラキドン酸代謝産物静脈内投与による気道粘膜浮腫および気道過敏性形成	86
3	LT受容体およびTXA ₂ 受容体の働き	90
V	結論	96
VI	謝辞	97
VII	文献	98

図表の目次

Figure 1.	Arachidonic acid cascade	9
Figure 2.	Structures of LT antagonist, ONO-1078 and TXA ₂ antagonists, ONO-NT-126 and ONO-8809	18
Figure 3.	Experimental arrangement	19
Figure 4.	Experimental procedure (1)	21
Figure 5.	Experimental procedure (2)	22
Figure 6.	Measurement of dynamic airway resistance	23
Figure 7.	Relationship between airway resistance (Raw) and internal radius of airway (Ri) from Poiseuille's law	29
Figure 8.	Relationship between airway resistance (Raw), smooth muscle shortening (PMS), amount of the airway perimeter occupied by smooth muscle (PMP) and relative thickness of the airway wall (PW) described by Moreno and associates	30
Figure 9.	Slides from paraffin-embedded sections of the lungs were stained with haematoxylin-eosin	31
Figure 10.	Measurement and calculation of PW	32
Figure 11.	Changes of PW ₁ by intravenous administration of saline and LTC ₄	35
Figure 12.	Changes of PMS ₁ /PMS ₀ by intravenous administration of saline and LTC ₄	37

Figure 13. Changes of PW_1 by intravenous administration of saline and LTD_4	39
Figure 14. Changes of PMS_1/PMS_0 by intravenous administration of saline and LTD_4	41
Figure 15. Changes of PW_1 by intravenous administration of saline and $9\alpha,11\beta$ - PGF_2	43
Figure 16. Changes of PMS_1/PMS_0 by intravenous administration of saline and $9\alpha,11\beta$ - PGF_2	45
Figure 17. Changes of PW_1 by intravenous administration of saline and 13,14-dihydro-15-keto- $PGF_{2\alpha}$	46
Figure 18. Changes of PMS_1/PMS_0 by intravenous administration of saline and 13,14-dihydro-15-keto- $PGF_{2\alpha}$	48
Figure 19. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PW_1 induced by LTC_4	51
Figure 20. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS_1/PMS_0 induced by LTC_4 (Histamine $1.8\ \mu\text{g}/\text{kg}$)	53
Figure 21. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS_1/PMS_0 induced by LTC_4 (Histamine $3.6\ \mu\text{g}/\text{kg}$)	54
Figure 22. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PW_1 induced by LTD_4	55
Figure 23. Effect of intravenous administration of	

	ONO-1078 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by LTD ₄ (Histamine 1.8 μ g/kg)	57
Figure 24.	Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by LTD ₄ (Histamine 3.6 μ g/kg)	58
Figure 25.	Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PW ₁ induced by 9 α ,11 β -PGF ₂	60
Figure 26.	Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by 9 α ,11 β -PGF ₂ (Histamine 1.8 μ g/kg)	61
Figure 27.	Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by 9 α ,11 β -PGF ₂ (Histamine 3.6 μ g/kg)	62
Figure 28.	Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PW ₁ induced by 9 α ,11 β -PGF ₂	64
Figure 29.	Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by 9 α ,11 β -PGF ₂ (Histamine 1.8 μ g/kg)	65
Figure 30.	Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by 9 α ,11 β -PGF ₂ (Histamine 3.6 μ g/kg)	66
Figure 31.	Effect of intravenous administration of	

- ONO-NT-126 on the changes of PW_1 induced
by 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 68
- Figure 32. Effect of intravenous administration of
ONO-NT-126 on the changes of PMS_1/PMS_0
induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α}
(Histamine 1.8 μ g/kg) 69
- Figure 33. Effect of intravenous administration of
ONO-NT-126 on the changes of PMS_1/PMS_0
induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α}
(Histamine 3.6 μ g/kg) 70
- Figure 34. Effect of oral administration of ONO-8809
on the changes of PW_1 induced by
13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 72
- Figure 35. Effect of oral administration of ONO-8809
on the changes of PMS_1/PMS_0 induced by
13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α}
(Histamine 1.8 μ g/kg) 73
- Figure 36. Effect of oral administration of ONO-8809
on the changes of PMS_1/PMS_0 induced by
13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α}
(Histamine 3.6 μ g/kg) 74
- Figure 37. Effect of intravenous administration of
ONO-NT-126 on the changes of PW_1 induced
by LTC₄ 76
- Figure 38. Effect of intravenous administration of
ONO-NT-126 on the changes of PMS_1/PMS_0

	induced by LTC ₄ (Histamine 1.8 μ g/kg)	77
Figure 39.	Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by LTC ₄ (Histamine 3.6 μ g/kg)	78
Figure 40.	Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PW ₁ induced by LTC ₄	80
Figure 41.	Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by LTC ₄ (Histamine 1.8 μ g/kg)	81
Figure 42.	Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS ₁ /PMS ₀ induced by LTC ₄ (Histamine 1.8 μ g/kg)	82
Figure 43.	Schematic representation of possible interaction between LTC ₄ (LTD ₄), 9 α ,11 β - PGF ₂ , 13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α} , LT antagonist and TXA ₂ antagonist in the airway of guinea pigs	95
Table 1.	Effects of inflammatory mediators implicated in asthma	4
Table 2.	Relative thickness of the airway (PW) in main bronchi (MB), intermediate bronchi (IB) and peripheral bronchi (PB) after intravenous administration of LTC ₄	36

Table 3.	Relative thickness of the airway (PW) in main bronchi (MB), intermediate bronchi (IB) and peripheral bronchi (PB) after intravenous administration of LTD ₄	40
Table 4.	Relative thickness of the airway (PW) in main bronchi (MB), intermediate bronchi (IB) and peripheral bronchi (PB) after intravenous administration of 9 α,11 β-PGF ₂	44
Table 5.	Relative thickness of the airway (PW) in main bronchi (MB), intermediate bronchi (IB) and peripheral bronchi (PB) after intravenous administration of 13,14-dihydro-15-keto-PGF _{2α}	47
Table 6.	Effect of ONO-1078 for relative thickness of the airway (PW) in main bronchi (MB), intermediate bronchi (IB) and peripheral bronchi (PB) after intravenous administration of LTC ₄	52
Table 7.	Effect of ONO-1078 for relative thickness of the airway (PW) in main bronchi (MB), intermediate bronchi (IB) and peripheral bronchi (PB) after intravenous administration of LTD ₄	56

I 序論

1 気管支喘息における気道過敏性の関与

気管支喘息は多様で可逆的な気道閉塞と気道過敏性、すなわち様々な非特異的な刺激に対して気道が過度に狭窄する反応に特徴づけられている (1)。気道平滑筋の収縮は喘息における気道閉塞の重要な機序として指摘されているが、近年、微小血管漏出や血漿成分の滲出や気道分泌物による気道内腔の閉塞によりもたらされる気道粘膜の浮腫の関与が注目されている (2)。気道壁内での炎症は長い間、致命的な喘息発作の重要な特徴として考えられてきた (3、4) が、近年軽度の喘息患者の気管支生検からも同様な変化が認められている (5)。現在、喘息の特徴である気道過敏性における気道炎症の関与についての様々な研究が行われており (6、7)、これらの病理学的変化は気道内での炎症細胞から出される様々なメディエーターの遊離によって形成されると考えられている。

2 気道過敏性に関わる炎症細胞および化学伝達物質

1) 炎症細胞

気道内の炎症細胞は様々なメディエーターを遊離し、複雑な相互反応により炎症反応を惹起し、気道過敏性形成に関与すると考えられている (Table.1)。

①肥満細胞

以前から肥満細胞は気管支喘息の病態において中心的な役割を担っていると考えられてきた。肥満細胞からはヒスタミン、プロスタグランジン (PG)、ロイコトリエン (LT) などのメディエーターが遊離し、喘息の様々な症状を惹起する (8、9)。肥満細胞からの免疫グロブリン E (IgE) 依存性のメディエーター遊離はアレルゲンに対

する即時型の気管支収縮反応を惹起すると考えられており、また、肥満細胞は運動、冷氣などに対する気管支収縮反応にも関与しているとされている(8)。しかし近年では肥満細胞の細胞膜を安定化させる薬剤や β -2受容体刺激剤がアレルギーに対する遅延型反応やそれに引き続く気道過敏性の形成を抑制しないという報告(10)から、肥満細胞が気道過敏性や気道炎症の中心的役割を果たしているかが疑問視されるようになった。

②マクロファージ

マクロファージは気道中に豊富に存在し、IgE依存性機構により活性化されることより気道炎症に関与していることが示唆されている(11)。喘息患者から採取されたマクロファージは健常人のマクロファージよりも大量にトロンボキサン(TX)やプロスタグランジン、血小板活性化因子(PAF)を遊離することが知られており、マクロファージの作用は副腎皮質ステロイドにより抑制される(12)。

③好酸球

気道内への好酸球浸潤は気管支喘息の特徴的な所見(4)であり、他の気道炎症反応と著しく異なる点である。抗原暴露後の気管支洗浄液中には好酸球が増加することが知られており(13)、末梢血好酸球増加と気道過敏性との間にも関連性が認められている(14、15)。好酸球はLTやPAFなどのメディエーターを遊離し、また気道上皮損傷を起こすmajor basic protein(MBP)やeosinophilic cationic protein(ECP)などの蛋白を遊離する(16、17)。

④好中球

好中球もまた喘息患者の気道内に存在し、LTB₄(18)、PGD₂(19)、PAF(20)、アデノシン(21)などの多くのメディエーターを遊離する。しかしながら気道過敏性の動物モデルでは好中球は気道内での役割は好酸球に比べると弱いとされている(22)。

⑤気道上皮細胞

気道上皮損傷は喘息の特徴的所見であり、これが気道過敏性形成に関与すると考えられており、オゾン暴露、上気道のウイルス感染、抗

原暴露などによる気道過敏性亢進は気道上皮損傷に関連があることが知られている (5)。In vitroでは上皮細胞の欠落が気道収縮反応を惹起するが、これはおそらく気道上皮細胞が気道拡張因子を遊離しているものと考えられ (23、24、25)、また知覚神経末端が露出されることによりコリン作動性の気道収縮がおこると考えられている (26)。気道上皮細胞はまた、LTB₄ (27) や15-hydroxy-5,8,11,13-

eicosatetraenoic acid (15-HE T E) (28) などの炎症細胞遊走因子を遊離する。

⑥血小板

喘息患者の中に血小板機能異常がしばしば認められる。動物実験では血小板は気道過敏性に関与していると考えられている (29)。血小板はセロトニンやトロンボキサン、platelet activating factor (P A F)、フリー・ラジカルなどのメディエーターを遊離し、I g E 依存性機構により活性化される (30)。

2) 化学伝達物質 (chemical mediator)

気管支喘息の最も特徴的なものは気道過敏性亢進であるが、気道過敏性はウイルス感染 (31) やオゾン暴露 (32)、抗原暴露 (33) などの後に亢進することが知られている。一方、このような刺激に際してchemical mediatorは、肺局所で産生遊離されて気管支平滑筋に作用し、C a²⁺の存在下で気管支平滑筋を収縮し喘息発作を惹起すると考えられている。

これらのchemical mediatorには、ヒスタミン、セロトニン、ブラジキニン、プロスタグランジン、slow reacting substance of anaphylaxis (S R S - A) などが知られており、これらはアセチルコリンやノルエピネフリンなどの神経伝達物質やホルモンなどの内分泌物質と異なり、局所に作用して身体の中をあまり循環しないという特徴があり局所ホルモン (オータコイド) とも呼ばれている。これらのchemical mediatorは細胞内に保持しているもの (preformed mediators) と細胞が新しく生成するもの (newly generated mediators) に大別される。

Table 1. Effects of inflammatory mediators implicated in asthma

Mediator	Bronchoconstriction	Airway secretion	Microvascular leakage	Chemotaxis	Bronchial hyperresponsiveness
Histamine	+ *	+	+	+	-
Prostaglandin D ₂ , F _{2α}	++	+	?	?	+
Prostaglandin E ₂	-	+	-	+	-
Thromboxane A ₂	++	?	-	±	+
Leukotriene B ₄	-	-	±	++	±
Leukotriene C ₄ , D ₄ , E ₄	++	++	++	?	±
Platelet-activating factor	++	+	++	++	++
Bradykinin	+	+	++	-	-
Adenosine	+	?	?	?	-
Substance P	+	++	++	±	-
Neurokinin A	++	+	+	-	-
Complement fragments	+	+	+	++	-
Serotonin	±	?	+	-	-
Oxygen radicals	+	?	+	?	-
Endotheline	+	?	?	?	?

* Key : ++, pronounced effect; +, moderate effect; ±, uncertain effect; ?, information not available

前者にはヒスタミン、セロトニン、neutrophil chemotactic factor (NCF)、eosinophilic chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A)、後者にはプロスタグランジン (PG) D_2 、 $PGF_{2\alpha}$ 、トロンボキサン (TX) A_2 、PAF、 LTC_4 、 LTD_4 、 LTE_4 などが含まれる。一般に気管支喘息患者では種々のchemical mediatorに対する気道の反応性は健常人に比して数百倍から数千倍亢進している。

3 アラキドン酸代謝産物と気道過敏性

1) シクロオキシゲナーゼ系代謝産物

1960年代に最初のプロスタグランジンが証明、分離されてから、アラキドン酸シクロオキシゲナーゼ系代謝産物は気管支喘息に関与すると考えられてきた。そしてこれらを代謝、遊離、不活性化する肺組織についての多くの生物化学的、薬理学的作用が研究されている。ヒトの気道内でのシクロオキシゲナーゼ系代謝産物の効果については多くの情報が得られている。

①合成と代謝 (Figure 1)

プロスタグランジンはアラキドン酸から生成され、この生成はフォスホリパーゼ A_2 による細胞膜リン脂質からの合成とともに行われる (34)。アラキドン酸はシクロオキシゲナーゼにより酸化されエンドペルオキシドである PGG_2 に代謝されるが、すぐには不安定なエンドペルオキシドである PGH_2 となり、さらに合成酵素により $PGF_{2\alpha}$ 、 PGE_2 、そして PGD_2 が生成される。その他 TXA_2 やプロスタサイクリン (PGI_2) も生成されるが、両者とも TXB_2 や6-keto- $PGF_{1\alpha}$ に加水分解される。プロスタグランジンの肺での代謝で最も重要な酵素は15-hydroxy-PG-dehydrogenase (PGDH) であり、 PGE_2 と $PGF_{2\alpha}$ はほぼ完全に不活性化される (35、36、37)。この不活性化は血管内皮の細胞膜による選択的で能動的なプロスタグランジンの取り込みによる機構であり (38)、インドメタシンなどのPG拮抗薬で阻害される (38、39)。 PGD_2 はPGDHにより $9\alpha,11\beta$ - PGF_2 に

代謝され、(40、41) また $\text{PGF}_{2\alpha}$ は肺内で安定代謝産物である 13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ に変換される (40)。

PGD_2 と PGI_2 はアナフィラキシー反応においてヒト肺実質より遊離され、同時に微量の TXA_2 、 PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ も遊離される (42)。一方、気道内では PGI_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 PGE_2 は多量に遊離され (43、44)、アナフィラキシーに伴ったプロスタグランジンは、肺実質内のヒスタミン (H_1) 受容体の刺激により肥満細胞から遊離し、気道平滑筋に対する非特異的な収縮反応にも関与すると考えられている (45)。精製されたヒト肺実質の肥満細胞を IgE 依存性に活性化させるとシクロオキシゲナーゼ系の主な代謝産物として PGD_2 が遊離される。

ヒト肺胞マクロファージもまた PGD_2 、および微量の PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 TXB_2 を遊離する (46、47)。In vivo では喘息モデルの気道内に抗原を吸入させると気管支洗浄液中に PGD_2 が即時的に遊離される (48)。 PGE_2 はブラジキニンで刺激された犬の気道上皮細胞より遊離され (49)、ヒト肺血管内皮細胞からは PGI_2 が遊離される。さらに、血小板や好中球は TXA_2 や PGE_2 などのシクロオキシゲナーゼ系代謝産物の生成に関与している (19)。

②気道内での作用

(a)気道平滑筋

In vitro において PGD_2 、 $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 TXA_2 はヒト気道平滑筋を収縮させ (50)、 PGE_2 と PGI_2 はヒト気道平滑筋を弛緩させる作用を持つ (51、52)。しかし、この作用はイソプロテレノールの作用と比較すると弱い。 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の吸入は濃度依存性の気管支収縮反応を惹起する (53)。喘息患者は健常人と比較すると気管支収縮反応はより強くなる (53)。Thomsonらは $\text{PGF}_{2\alpha}$ とメサコリンの気道反応性を比較し、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ が約100倍強い反応を示し、一方アスピリン喘息患者では $\text{PGF}_{2\alpha}$ に対しては強い反応を示さないことを報告した (54)。 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の気管支収縮反応に対するタキフィラキシー (過耐性) は喘息患者において認めるが健常人では認められない (55)。

PGD₂はPGF_{2α}の約3倍、ヒスタミンの約30倍の気管支収縮作用を持ち、作用時間も長い(56)。その作用はTXA₂受容体拮抗薬で抑制されるため、PGD₂はTXA₂受容体を介して作用すると考えられている(57)。しかしながらヒト気道内でのTXA₂やその安定代謝産物のTXB₂の作用については明確にされていない。犬においてはトロンボキサン合成阻害剤がPAF(58)、アレルギー(59)、オゾン(60)などの気道過敏性を抑制することから、TXA₂が非特異的な気道過敏性に関与すると考えられている。

PGE₁とPGE₂は健常人でも喘息患者においても気道拡張作用を示すが、PGE₁とPGE₂に対する気管支収縮反応の報告もあり、これは気道に流入する迷走神経C線維の刺激によるものと考えられている(61)。PGI₂を静脈内投与あるいは吸入すると血小板凝集を抑制し、血漿中のサイクリックAMPを増加させる濃度においても、健常人および喘息患者の肺機能には影響を与えない(62)。しかし、PGI₂は喘息患者において超音波噴霧や運動(62)、そしてPGD₂(63)による気道収縮作用を抑制する。

ヒスタミンの気管支収縮作用は健常人においてはPGF_{2α}投与後すぐに一過性に増強され(64)、同様に喘息患者においてヒスタミンとメサコリンの反応はPGD₂により増強される(65)。TXA₂の類似化合物(U46619)投与により犬においてはコリン作動性の神経伝達物質の増加を認める(66)が、ヒト気道においては認められていない。同様の効果はPGF_{2α}でも認められる(67)。

(b)分泌

ヒト気道内では、PGD₂とPGF_{2α}は粘液性糖蛋白の遊離を増加させ(68)、PGE₂はその遊離を抑制する(68)。健常人では

PGF_{2α}の吸入は粘液性糖蛋白の産生を含む気道分泌を増加させる(69)。イオン輸送におけるシクロオキシゲナーゼ系代謝産物の効果は動物実験において多く報告されている。犬の気道ではPGF_{2α}は塩素イオンの分泌を増加させるが、PGE₁は塩素イオンおよびナトリウムイオンの分泌を減少させる(70)。ブラジキニン₁は気道上皮細胞か

らの PGE_2 の遊離により塩素イオンの分泌を刺激する(49)。牛の気道ではインドメタシンはナトリウムおよび塩素イオンの上皮細胞間の輸送を抑制する(71)。

(c)炎症効果

気道での血管透過性におけるシクロオキシナーゼ代謝産物の効果についてはまだ解明されていない。皮膚では PGE_1 および PGE_2 は浮腫の形成は認めないが強力な血管拡張作用を持つ。しかしながら、

PGE_1 、 PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 PGD_2 、 PGI_2 などのシクロオキシゲナーゼ系代謝産物はヒトを含む様々な種においてヒスタミン、

PAF 、ブラジキニンによる皮膚の浮腫形成を増強させる強力な作用を持つ(72、73、74)。 PGD_2 はヒト皮膚に注入されると、膨疹および発赤を形成するが、病理組織学的には30分後には血管近傍に炎症細胞の浸潤を認め、この局所的な炎症はロイコトリエン B_4 (LTB_4)

により増強される(75)。In vitroでは PGD_2 と TXA_2 の化学的な活性に関してはいくつかの報告(76)があるが、 PGD_2 と PGI_2 は血小板機能を抑制し(77、78)、 PGD_2 はヒト好塩基球からのヒスタミンの遊離を増強させる(79)。

(d)喘息での役割

$\text{PGF}_{2\alpha}$ と TXB_2 の血漿中濃度の増加は喘息患者において抗原暴露後の即時型の気管支収縮反応時に認められ(80)、気管支洗浄液中の PGD_2 の増加も即時型反応時に認められる(48)。喘息において血漿中の $\text{PGF}_{2\alpha}$ および PGE_1 の増加も報告されている(81)。

アスピリンやインドメタシンなどの非ステロイド系抗炎症剤によるシクロオキシゲナーゼの抑制は喘息患者および健常人において肺機能への影響は認められていない(82)。しかしながら、約5%にアスピリンや非ステロイド系抗炎症剤の投与後に症状の増悪を認める(アスピリン過敏性喘息)サブグループが存在する。気管支収縮作用の原因は不明であるが、シクロオキシゲナーゼの抑制が関与していると言われており(83)、アスピリンによって血小板が活性化するという報告もある(84)。インドメタシンやアスピリンによるシクロオキシゲナー

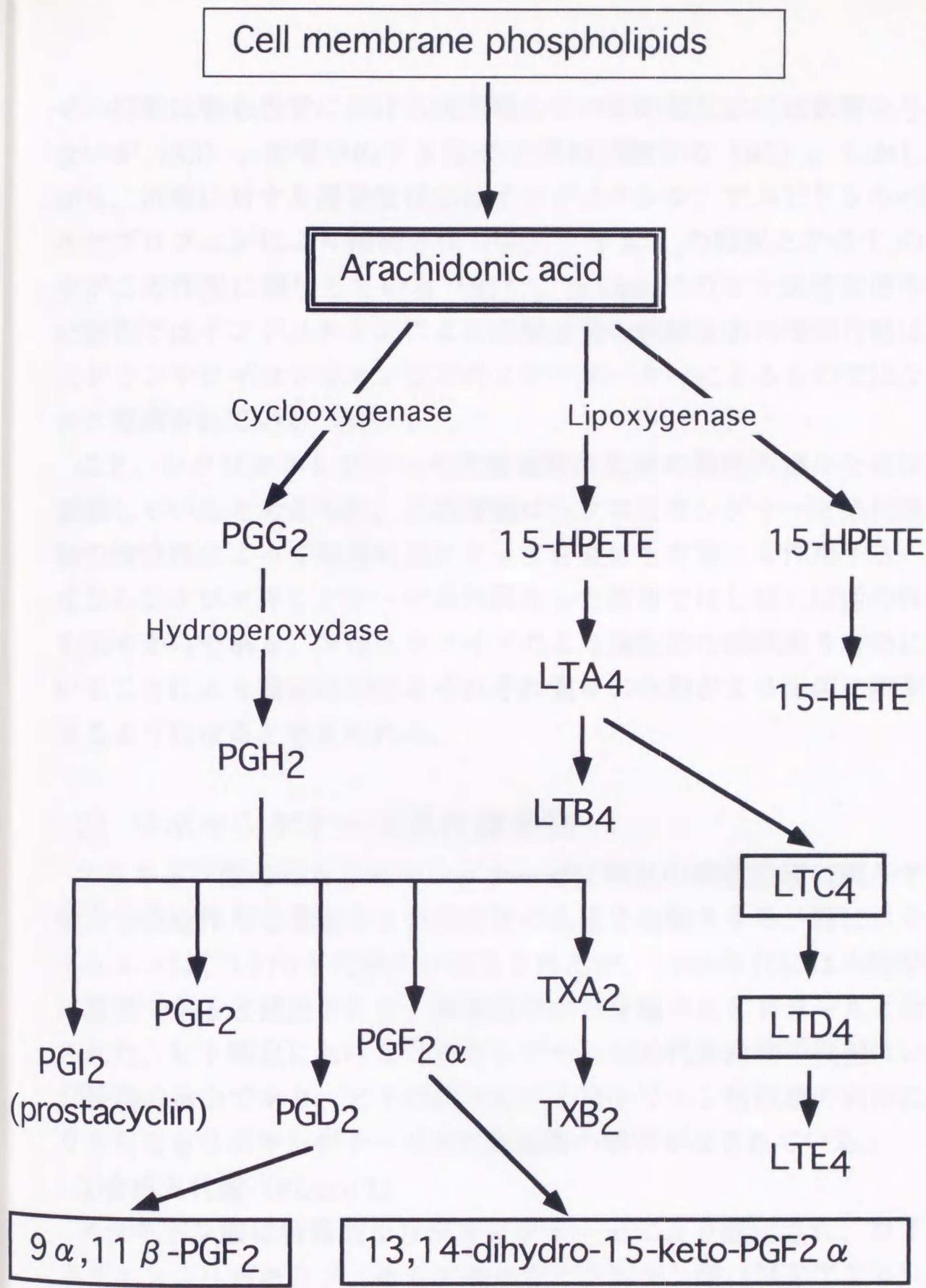


Figure 1. Arachidonic acid cascade

ゼの抑制は喘息患者における抗原吸入での即時型反応には影響を与えないが(82)、血漿中のTXB₂の上昇は抑制する(85)。しかしながら、抗原に対する遅発型反応はインドメタシン、アスピリンやベノキサプロフェンにより抑制され(85)、TXA₂の抑制とPGI₂の産生がこの作用に関与している(85)。In vitroでのヒト気管支標本での研究ではインドメタシンによる抗原誘発の収縮反応の増強作用はヒスタミンやロイコトリエンなどのメディエーターによるものではないかと推測されている(86)。

以上、シクロオキシゲナーゼ代謝産物は気道の機能の様々な症状を調節していると考えられ、この役割はシクロオキシゲナーゼ系代謝産物の優位性によって喘息気道にとって有益にも有害にも作用する。なぜならシクロオキシゲナーゼ系の異なった物質ではしばしば逆の作用を示すからである。プロスタノイドのより選択的な拮抗薬を有効に用いることにより喘息に対するそれぞれ個々の作用がより正確に解明できるようになると考えられる。

2) リポキシゲナーゼ系代謝産物

アラキドン酸のうちリポキシゲナーゼは喘息の病態生理に関与する強力な炎症作用を惹起する代謝産物の生成を増強させる。特にロイコトリエンは、1970年代後半に発見されたが、1930年代には生物学的に重要であると認識されて、肺灌流中から分離されSRS-Aと命名された。ヒト喘息におけるリポキシゲナーゼ系代謝産物の役割はいまだ評価の途中であり、ヒトの様々なロイコトリエン拮抗薬の利用によりさらなるリポキシゲナーゼ系代謝産物の解明がなされている。

①合成と代謝 (Figure 1)

アラキドン酸は特異的なリポキシゲナーゼにより酸化され、ロイコトリエン、リポキシン、そして様々なヒドロキシ酸(HE T E s)の合成が開始される。アラキドン酸の最初の代謝産物はヒドロキシエイコサテトラエノイック酸(HP E T E s)で、ペルオキシダーゼによりモノヒドロキシ酸(mono-HE T E s)に還元されるか、他の経路

により代謝される。mono-HE T E s は肺内で確認された代表的なアラキドン酸誘導体であり、15-HE T E が最も代表的である (87)。アラキドン酸からの5-HP E T E の合成と引き続く5-HP E T E からL T A₄への変換は5-リポキシゲナーゼにより触媒されるが、L T A₄は不安定なため、ジヒドロキシ酸であるL T B₄に加水分解されるか、L T B₄の異性体に変換し、また、L T A₄はグルタチオン存在下、グルタチオン転換酵素によりL T C₄に変換される (88)。L T C₄はマウスの肥満細胞腫でのS R S のひとつとして最初に発見された (89)。L T C₄は γ -グルタミルトランスぺプチダーゼによりL T D₄に変換され (90)、L T D₄はさらにジペプチダーゼによりL T E₄に変換される (91)。

ロイコトリエンの代謝は多くの組織や精製された細胞での研究がなされている (18、92)。好中球はカルシウムイオノフォアA23187で活性化されるとL T C₄の約5~10倍のL T B₄を産生するが、その量は正常の好酸球よりも少ない (16)。好酸球増多症の患者からはより多くのL T C₄が産生されるが (16)、好酸球は15-リポキシゲナーゼ経路も活性化させる (93)。これに対して、肺胞マクロファージは

L T C₄の20倍ものL T B₄を産生する (94)。ヒト肺組織はI g E 依存機構により活性化されスルフィドペプチドロイコトリエンを遊離するが、カルシウムイオノフォアによる刺激ではL T B₄が生成される (95)。高濃度に精製されたヒト肺の肥満細胞はI g E を介した活性化により10⁶個あたりL T C₄10ngおよび4ng以下のL T B₄を遊離し (92)、L T D₄およびL T E₄の生成量はわずかである。In vitroでは喘息患者からの肺組織の抗原チャレンジによりL T C₄、L T D₄、そしてL T E₄が遊離される (96)。ヒト単球はまた、カルシウムイオノフォアA23187による刺激下で多量のL T B₄、L T C₄を産生する (97)。犬とヒトの気道から得られた気管上皮細胞はL T B₄および15-リポキシゲナーゼ代謝産物を生成する (27、28)。L T E₄の異化作用は肺外で起きるが、L T E₄は腎から一部未変化のまま排泄される (98、99)。好酸球増多症の患者から得られた好酸球は次亜塩素

酸の産生により LTC_4 を不活性化させ (16)、 LTB_4 の不活性化はチトクローム P-450 が触媒する β 酸化により好中球内で起こる (100)。HETE_s と HETE_s はシクロオキシゲナーゼ系酵素と同様に 5-リポキシゲナーゼを抑制すると考えられている (101)。

リポキシンは 5 および 15 リポキシゲナーゼ経路の相互作用により酸化された新しく発見されたアラキドン酸代謝産物であり、

15-HETE と培養した好中球から初めて分離された (102)。好酸球を多く含む白血球はカルシウムイオノフォアで刺激されるとリポキシン A (LXA) を生成する (103)。

② 気道での効果

(a) 気道平滑筋

ヒト気管支平滑筋におけるスルフィドペプチドロイコトリエンの収縮作用に関しては多くの報告がある。 LTC_4 と LTD_4 は分離したヒト気管支の収縮作用はヒスタミンの約 1000 倍強力であるが (104)、ヒト肺実質ではヒスタミンよりも弱い (105)。 LTE_4 は LTC_4 や LTD_4 よりも作用は弱いものの、その作用は長時間続く。 LTB_4 もヒト摘出気管支を収縮させるが、急速にタキフィラキシーが進む (105)。5 および 15-HETE は *in vitro* にてヒト気管支平滑筋を収縮させる (106)。

In vivo では、 LTC_4 、 LTD_4 、そして LTE_4 の吸入の効果は正常および喘息モデルにおいて多く研究されてきた。動物実験では、ロイコトリエンは中枢および末梢気道ともに収縮させる (107)。 LTC_4 および LTD_4 の吸入はヒスタミンよりも 1000~5000 倍強力な作用を持つ (107、108)。 LTE_4 は LTD_4 に比較するとその作用の強さは約 10 分の 1 であるが、作用時間は長い (109)。喘息患者はロイコトリエン吸入により気道過敏性を形成するが (109、110)、喘息モデルでは LTD_4 はヒスタミンと同等の気道過敏性を示さなかった。

(b) 分泌

LTC_4 および LTD_4 は *in vitro* にてヒト気道からの粘液の遊離を刺激し、これはメサコリンの 10 倍強力である (111)。*In vivo* では、LT

C₄およびLTD₄は犬気管内への粘液分泌を増強させる(112)。犬の気管では、LTC₄、LTD₄、LTE₄は上皮を通して塩素イオン分泌を増加させ、犬アナフィラキシーでのSRS-Aの遊離は抗原吸入によっておこる粘液輸送速度の低下に関与している(113)。LTC₄はin vitroにおいて羊気道の線毛運動を刺激し、この作用はシクロオキシゲナーゼ代謝産物、おそらくPGE₂に媒介される(114)。

(c)血管系への作用

LTC₄、LTD₄、LTE₄はモルモット気道内での微小血管透過性をヒスタミンの少なくとも100~1000倍の活性で増加させるが(115)、これはおそらく血管内皮細胞での直接の作用と考えられている(116)。ロイコトリエン拮抗薬はモルモット気道での抗原誘発による微小血管漏出を抑制する(117)。ロイコトリエンのこの作用は血管収縮作用よりも先に起こり(116)、PGE₂やPGI₂などの血管拡張作用のプロスタグランジンによる微小血管漏出の作用は血管収縮作用の抑制と関与している(118)。しかしながら、ヒト皮膚ではLTC₄とLTD₄は強力な血管拡張作用を持ち、低濃度においても発疹および発赤を形成する(119)。LTB₄も微小血管透過性を亢進させるが、この作用は血管内皮の微小血管を通じた好中球の遊走と相互作用によるもので(120)、ヒト皮膚ではLTB₄による微小血管透過性亢進は血管拡張性のPGE₂により増強される(72)。

(d)細胞の効果

LTB₄はin vitroにて、好中球に対して最も強力な遊走作用をもつリポキシゲナーゼ代謝産物であるが(121)、好酸球に対してはほとんど作用をもたない。ヒト皮膚ではLTB₄を皮内注射すると、好中球の集積をおこし、遅発型の圧痛と硬結を伴う(119)。LTB₄はまたヒト好中球からライソソーム酵素の遊離を刺激し、スーパーオキシドの遊離を増強させる(122)。LTB₄はヒト好中球および好酸球の細胞表面にある補体(C3b)受容体を増加させる(123)。

(e)気道過敏性に対する効果

ロイコトリエンはin vitroにてヒスタミンに対するモルモット気管平

滑筋の反応性を亢進させるが、この作用は異なるスルフィドペプチドロイコトリエンでは違いがみられる (124、125)。LTB₄は犬においてアセチルコリンに対する気道反応を増強させる (126)。しかし、ヒトではLTD₄の吸入はヒスタミンに対する気管支収縮反応を増加させず (127)、一方、LTE₄は一過性にヒスタミンに対する気道反応性を亢進させる (128)。LTB₄はヒトではPGD₂の存在下でも気道過敏性に対しては効果を示さない (129)。

4 本研究の目的

気管支喘息は慢性の気道炎症性疾患とされ、気道過敏性も気道炎症の結果もたらせたものとの考えがある。気道炎症には肥満細胞、マクロファージ、好酸球、好中球、気道上皮細胞、血小板などの細胞が関与し、これらの炎症細胞が炎症性メディエーターを介して気道過敏性を亢進させると考えられている。炎症性メディエーターの中では近年アラキドン酸代謝産物が注目されており、シクロオキシゲナーゼ系代謝産物であるPGD₂、PGF_{2α}、TXA₂ (50、53、56、130) やリポキシゲナーゼ系代謝産物であるLTC₄、LTD₄ (104、107、108) は気管支収縮作用および血管透過性亢進による気道粘膜浮腫、気道分泌亢進作用をもつが、同時にヒスタミンやメサコリンなどの気管支収縮作用を増強させる作用も有する (64、65、124、125)。しかしながら、気道内におけるアラキドン酸代謝産物の作用機序に関しては不明な点が多く、プロスタノイド受容体に関しても分類に混乱を生じており現在のところモルモット気道内においてはロイコトリエン受容体およびトロンボキサンA₂受容体が気道過敏性形成の中心的な役割を担っていると考えられている。よって本研究ではモルモット気道内におけるアラキドン酸代謝産物による気道過敏性形成について検討し、ロイコトリエン受容体およびトロンボキサンA₂受容体の関与について考察した。一方、従来in vivoにおける気道過敏性の評価に関しては気道抵抗値の変化 (ΔR_{aw}) を指標としてきたが、Morenoらは気道粘膜浮

腫による気道壁の肥厚が気道狭窄を引き起こし気道抵抗に影響を与えるため、気道平滑筋収縮による気道抵抗の上昇を正確に評価できないと指摘している(131)。そこで本研究では気道抵抗値の変化が気道粘膜浮腫形成と気道平滑筋の収縮率の増加の相乗作用と考え、共同研究者の塚越らの報告(132)に従い気道平滑筋の収縮率percentage of airway smooth muscle shortening (PMS)の増加を純粹な気道過敏性の亢進とみなし、アラキドン酸代謝産物静脈内持続投与による気道粘膜浮腫形成とは別々に算出した。すなわち、アラキドン酸代謝産物をそれ自身では気管支収縮を起こさない低濃度をモルモットに静脈内持続投与し気道粘膜浮腫のみを形成させ、気道抵抗値の変化からpoiseuilleの法則を用いて気道粘膜浮腫の指標であるproportion of airway wall thickness (PW)を算出した。さらにヒスタミン投与により気道平滑筋を収縮させ、その気道抵抗値の変化およびPWから気道粘膜浮腫の影響を除外した気道平滑筋の収縮率の比を算出し気道過敏性亢進の指標とした。尚、気道粘膜浮腫形成に関しては組織学的に証明するため、アラキドン酸代謝産物を静脈内持続投与した後モルモットを解剖し気管支の横断面を作製、顕微鏡下に気道平滑筋が収縮していないことを確認し、さらに気道粘膜面積をdigitizerで計測後PWを算出し気道粘膜浮腫の有無を評価した。さらに算出したPWをpoiseuilleの法則を用いて算出されたPW₁と比較し、両群の相関性の有無を検討した。

本研究では以上のシステムを用いてシクロオキシゲナーゼ系代謝産物である9 α ,11 β -PGF₂ (PGD₂の安定代謝産物)、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} (PGF_{2 α} の安定代謝産物)およびリポキシゲナーゼ系代謝産物であるLTC₄、LTD₄静脈内持続投与がモルモット気道粘膜浮腫を形成するか否か、またヒスタミンに対する気道過敏性を亢進させるか否かを検討した。さらに本研究ではモルモット気道内におけるプロスタノイド受容体の作用機序を推察するため、ロイコトリエン受容体拮抗薬であるONO-1078(133)およびトロンボキササンA₂受容体拮抗薬であるONO-NT-126(134)、ONO-8809(135)を用い、これらがアラキドン酸代謝産物静脈内投与によるモルモット気道粘膜

浮腫形成およびヒスタミンに対する気道過敏性亢進をどのように抑制するかを検討した。

II 対象と方法

1 実験動物

Hartley系雄性 モルモット (週齢5~8週、体重300~500g) を今井実験動物 (埼玉県) より購入した。動物は21~26℃に一定に保温された動物室にて、自由摂餌・摂水下で飼育し、実験に用いた。

2 使用薬物

$9\alpha, 11\beta$ -PGF₂、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 、LTC₄、LTD₄、ONO-NT-126、ONO-8809、ONO-1078 (小野薬品工業より供与) (Figure 2)、ヒスタミン、polyoxyethylene sorbitan mono-oleate (Tween 80) (Sigma製)、polyoxyethylene glycoline tri-oxystealine acid (HCO-40) (日光ケミカルズ製)、フェノバルビタール (マルコ製薬製)、ペントバルビタール (Abbot製)、塩化アルクロニウム (Roche製)

3 実験方法

1) 実験装置設定 (Figure 3)

Hartley系雄性 モルモットに、フェノバルビタール100mg/kg、ペントバルビタール30mg/kgを腹腔内に投与して麻酔した後、塩化アルクロニウム5mg/kgを腹腔内に投与し、筋を弛緩させた。ただちに頸部を切開し気管切開を行った後気管カニューレを挿入し、仰臥位にてplethysmograph box内でHarvard rodent ventilator model 683に接続し、1回換気量10ml/kg、分時換気数60の強制換気を行った。

2) 薬物投与方法 (Figure 4、Figure 5)

頸静脈にカテーテルを留置して薬物投与経路とし、Harvard apparatus syringe infusion pump 22により、薬物を投与した。投与方法は、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} は、10 μ gを生理的食塩液10mlに溶解し、10 μ g/kg体重を1時間かけて静脈内に投

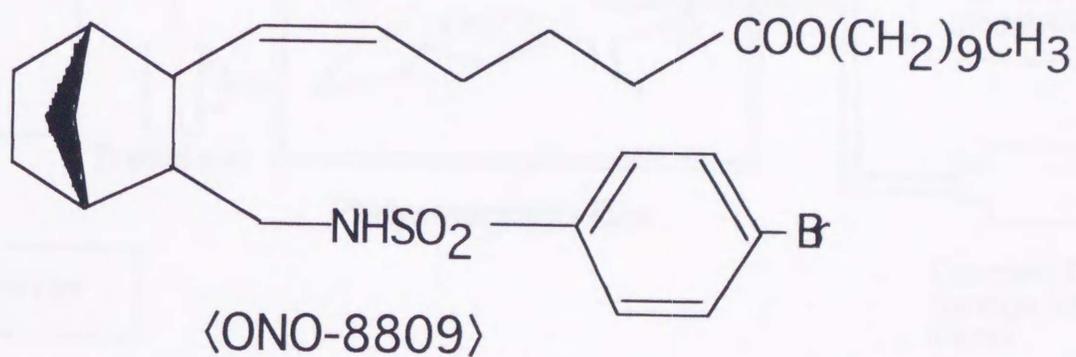
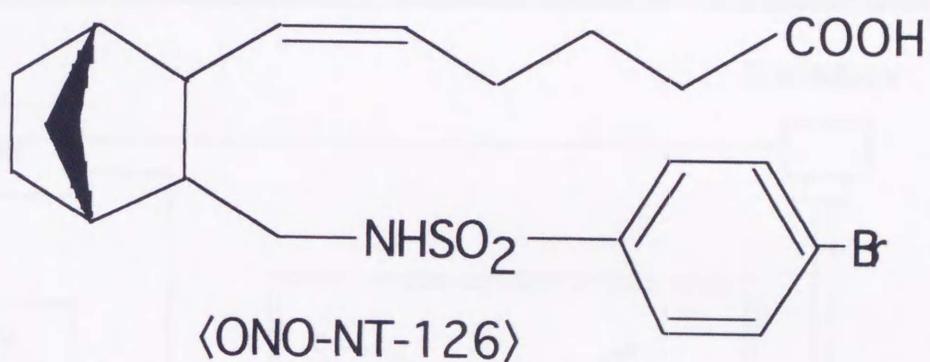
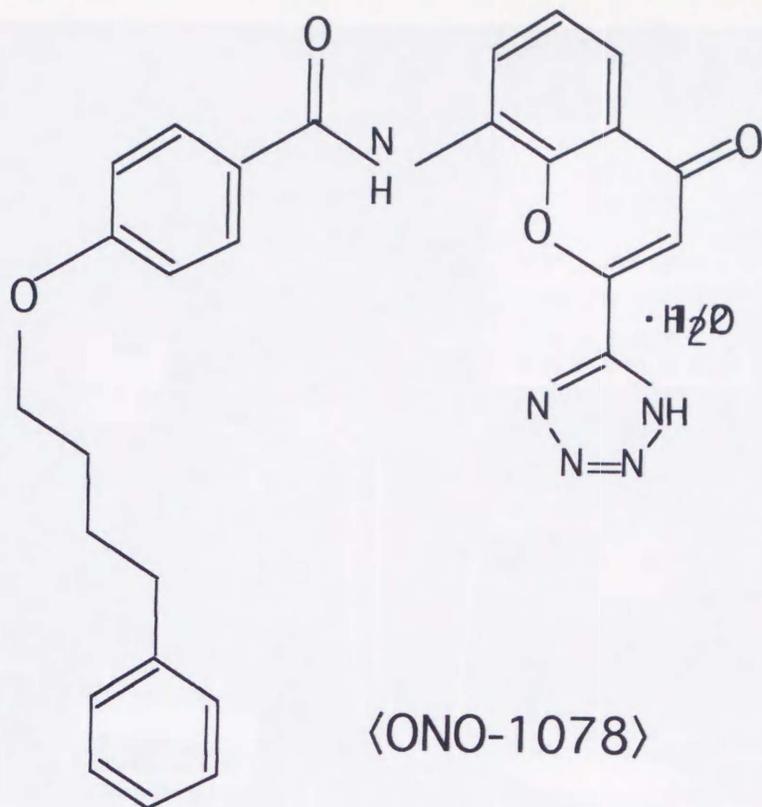


Figure 2. Structures of LT antagonist, ONO-1078 and TXA₂ antagonists, ONO-NT-126 and ONO-8809

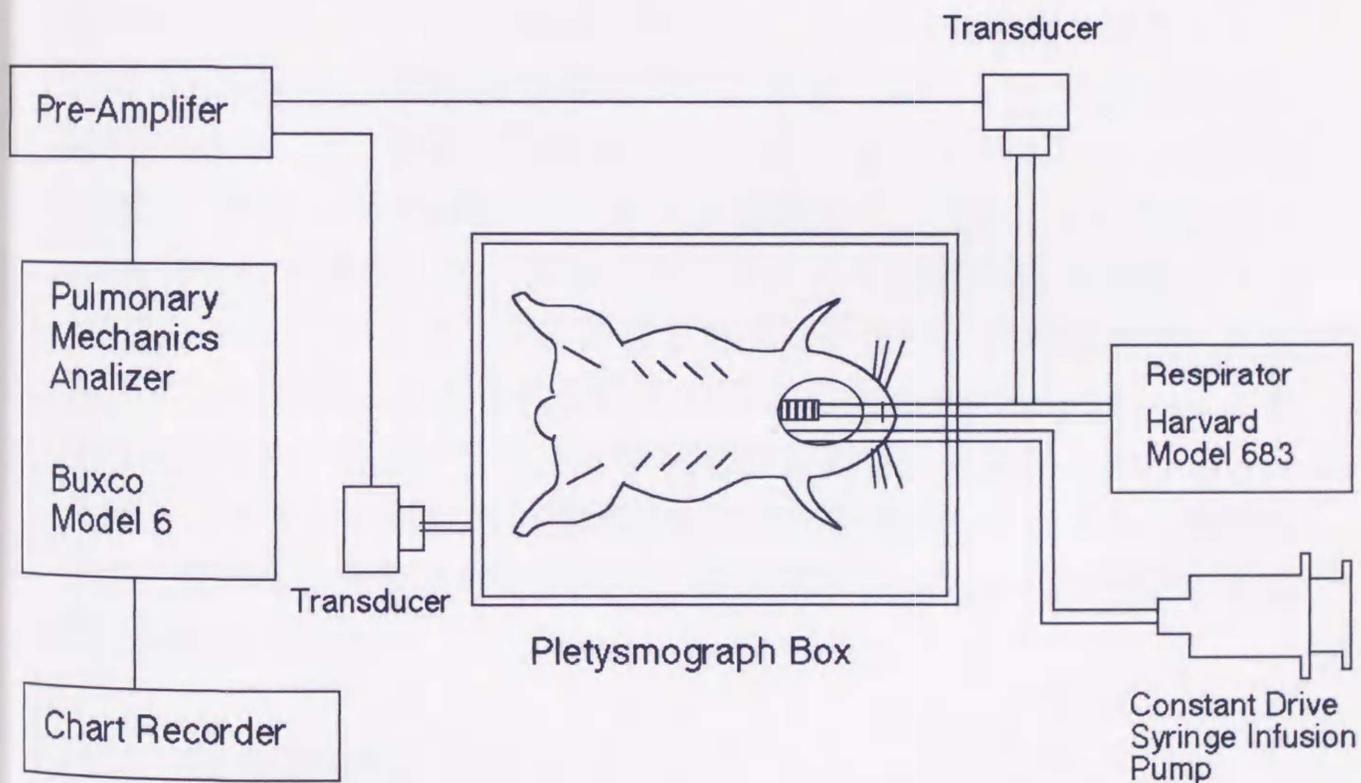
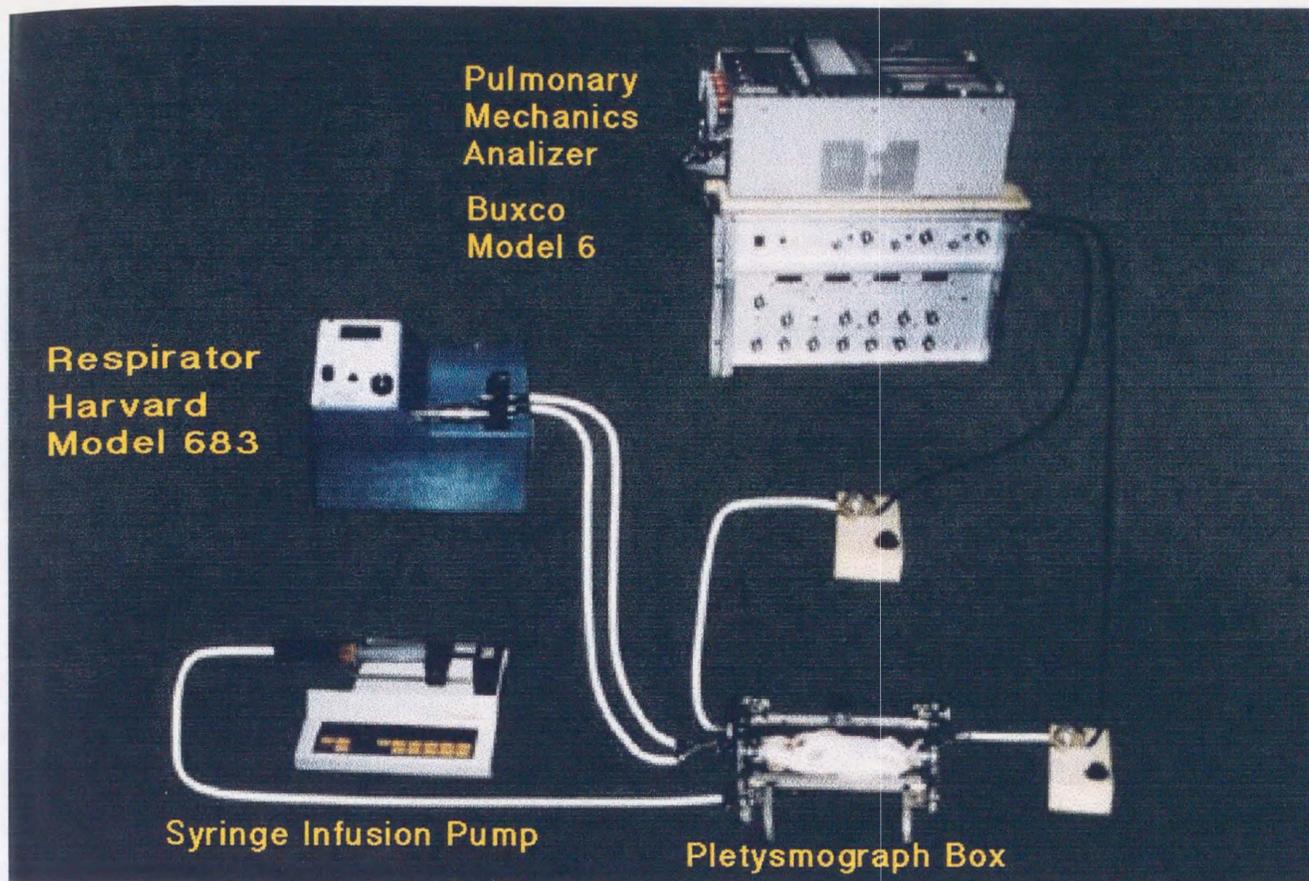


Figure 3. Experimental arrangement

与した。LTC₄、LTD₄は、1 μgまたは3 μgを生理的食塩液10 mlに溶解し、1 μg/kgまたは3 μg/kg体重を1時間かけて静脈内に投与した（注入速度10 ml/kg/hr）。コントロールとして、生理的食塩液10 ml/kgを投与した。また、TXA₂拮抗薬ONO-NT-126およびその前駆物質であるONO-8809は、濃度がそれぞれ3、10 μg/ml、および30、100 μg/mlとなるよう0.5% (v/v) Tween-80生理的食塩液を用い調整した。ONO-NT-126は3、10 μg/kgを各種薬物投与開始30分前にbolus shotにより静脈内に、ONO-8809は30、100 μg/kgを1時間前に胃管を用いて経口投与した。LT拮抗薬ONO-1078は、ONO-1078 500mgをエタノール5 ml、1 N NaOH 1.038 mlおよび蒸留水3.962 mlに加え、50~60℃にて加熱溶解し、これを原液とした。ついで界面活性剤HCO-40 1gをエタノール5 mlに溶解した後、生理的食塩液を加えて100 mlにした溶液を用いて原液を希釈し、ONO-1078は最終濃度が10 μgおよび100 μg/ml 5% (v/v) エタノール、1% (w/v) HCO-40、生理的食塩液に調整した。ONO-1078は10、100 μg/kgをLTC₄、あるいはLTD₄投与30分前に静脈内投与した。気管支収縮剤としては、1.8および3.6 μg/ml生理的食塩液に調整した2種類のヒスタミン溶液をそれぞれ、1 ml/kg体重でbolus shotにて投与した。各濃度のヒスタミン溶液の投与間隔は10分とした。なお、ヒスタミンに対する気道反応性は、各種薬物注入開始20および10分前、および注入終了25および35分後にbolus shotにて静脈内に投与し、各種アラキドン酸代謝産物持続注入前後における各用量のヒスタミンに対する気道抵抗値の変化を測定した。なお、薬物持続注入前後は、血管確保の目的で、注入速度10 ml/kg/hrで生理的食塩液を持続注入した。

3) 肺機能測定方法

Buxco pulmonary mechanics analyzer model 6を用いて、動肺コンプライアンスC_{dyn}、および動的呼吸抵抗R_{dyn}を測定した (Figure 6)。実験は、

①生理的食塩液投与群 (対照群)

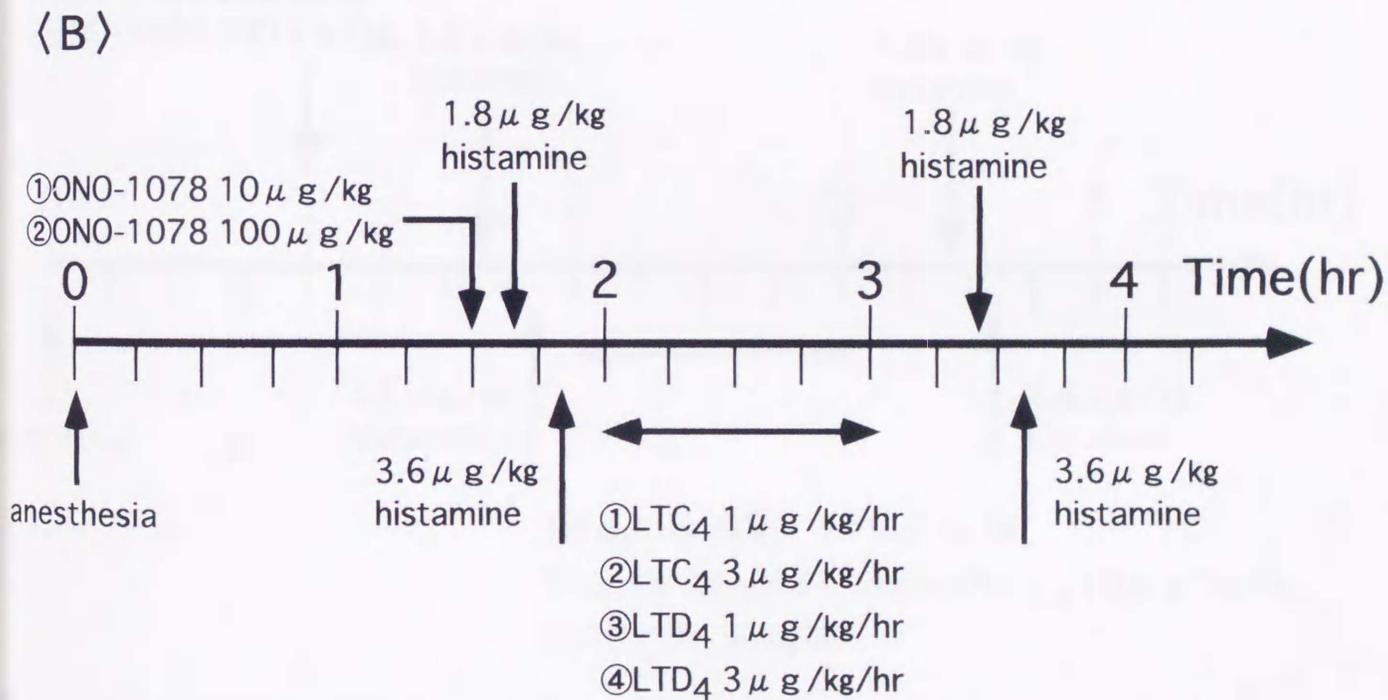
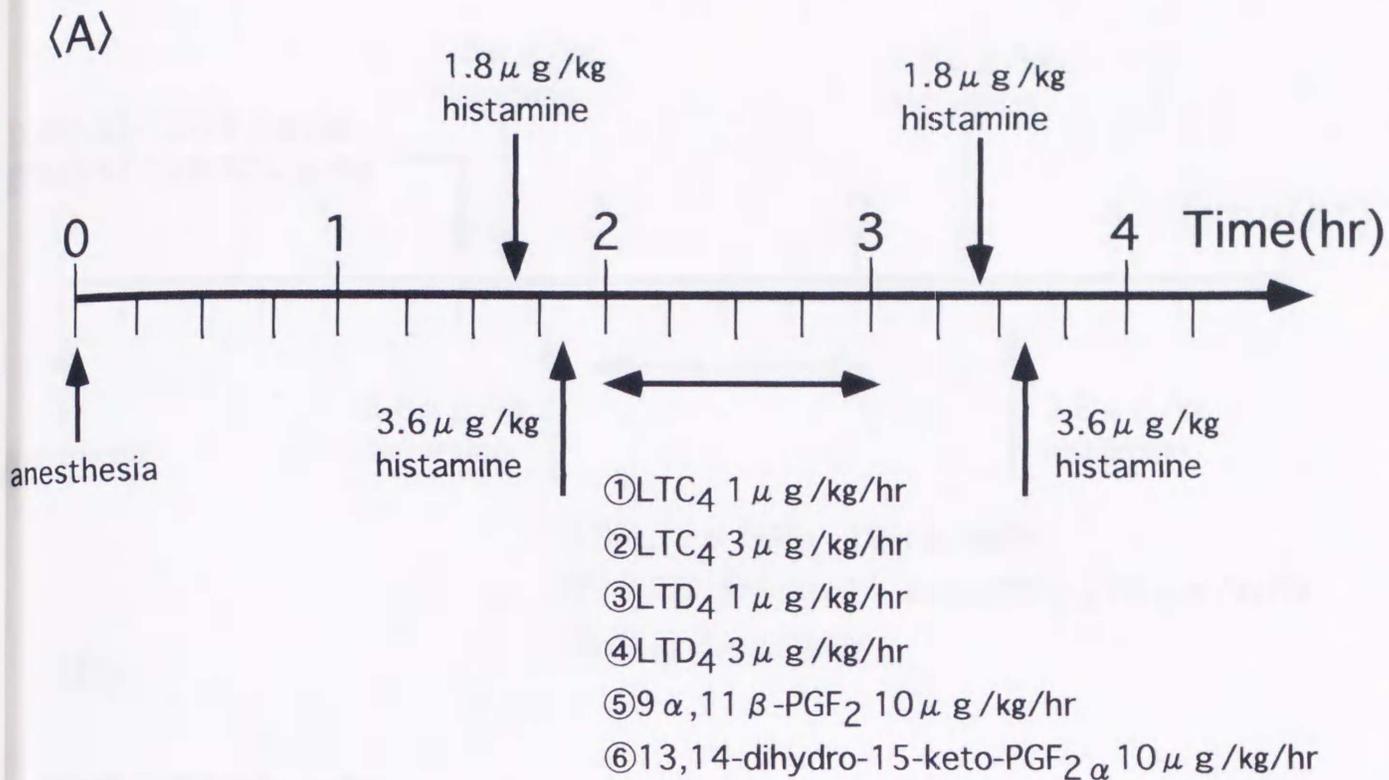
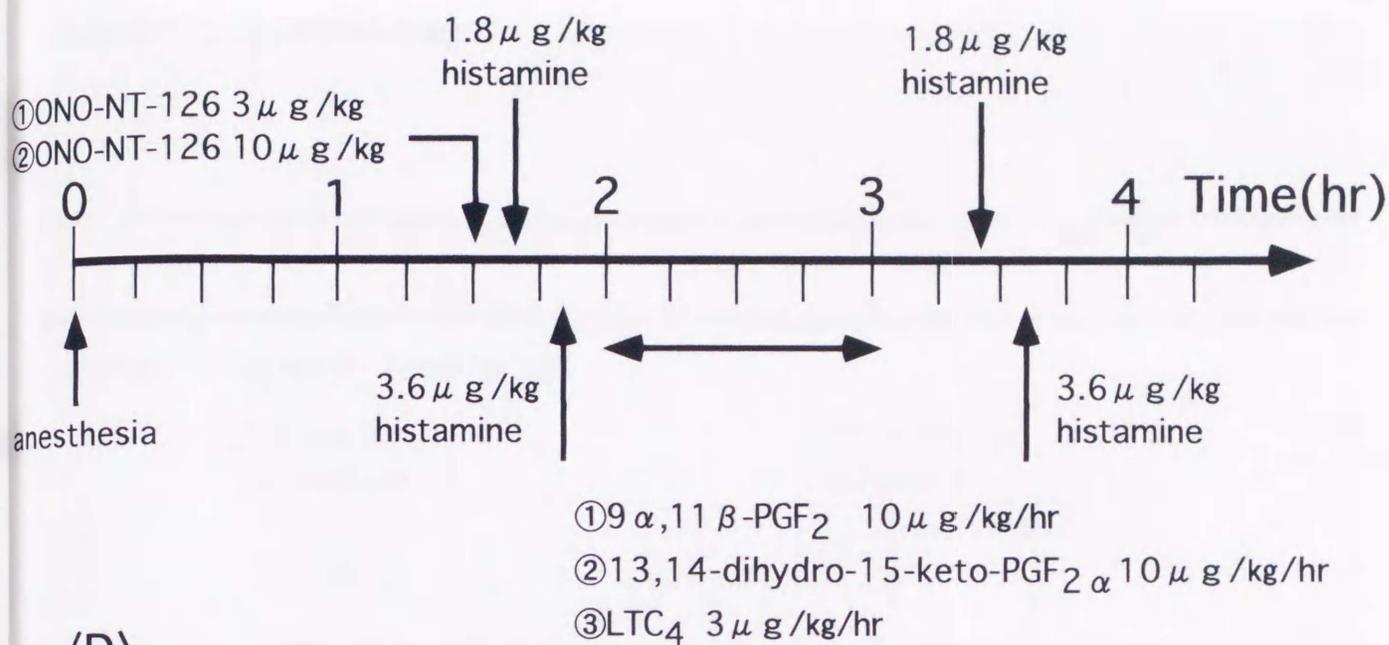


Figure. 4 Experimental procedure (1)

A : Effect of intravenous infusion of mediators(①LTC₄ 1 $\mu\text{g/kg/hr}$ ②LTC₄ 3 $\mu\text{g/kg/hr}$ ③LTD₄ 1 $\mu\text{g/kg/hr}$ ④LTD₄ 3 $\mu\text{g/kg/hr}$ ⑤9 α ,11 β -PGF₂ 10 $\mu\text{g/kg/hr}$ ⑥13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α 10 $\mu\text{g/kg/hr}$) on the airway responses to 1.8 and 3.6 $\mu\text{g/kg}$ histamine.

B : Effect of intravenous administration of 10 and 100 $\mu\text{g/kg}$ ONO-1078 on the airway responses to 1.8 and 3.6 $\mu\text{g/kg}$ histamine induced by intravenous infusion of mediators(①LTC₄ 1 $\mu\text{g/kg/hr}$ ②LTC₄ 3 $\mu\text{g/kg/hr}$ ③LTD₄ 1 $\mu\text{g/kg/hr}$ ④LTD₄ 3 $\mu\text{g/kg/hr}$).

<C>



<D>

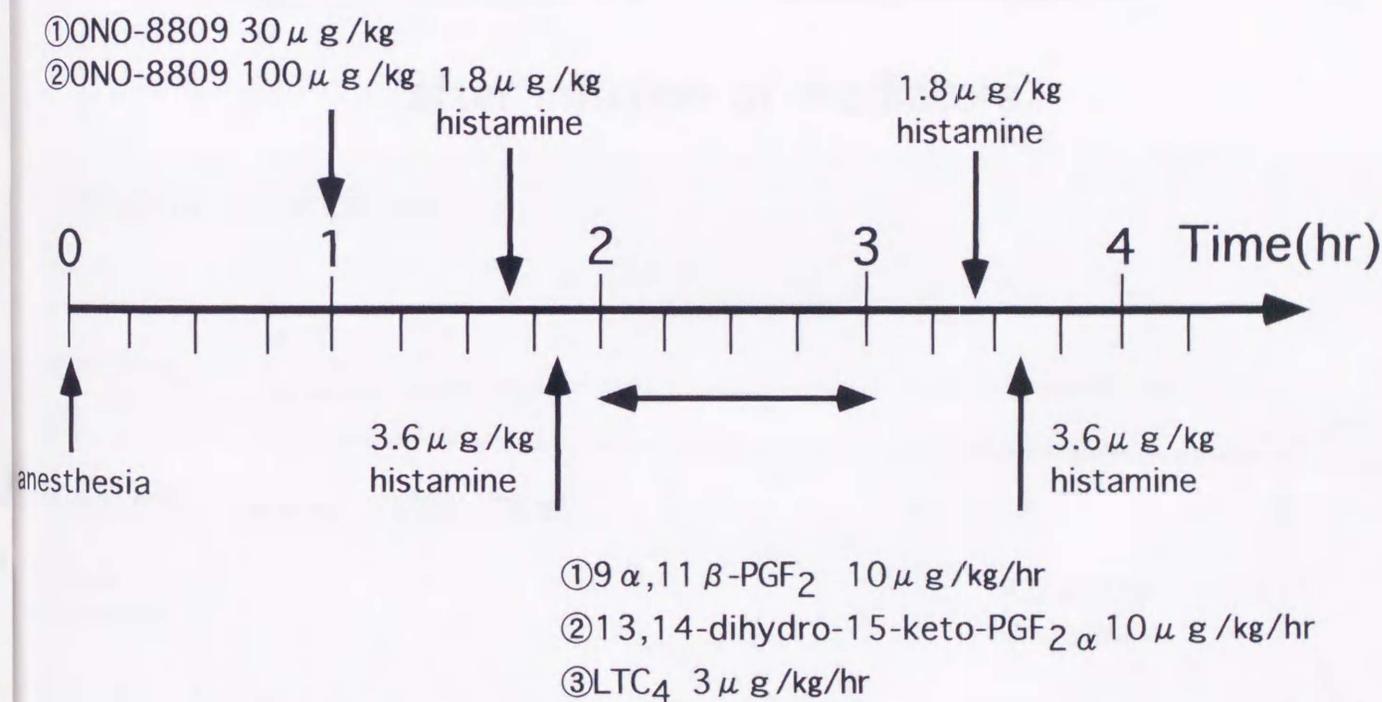


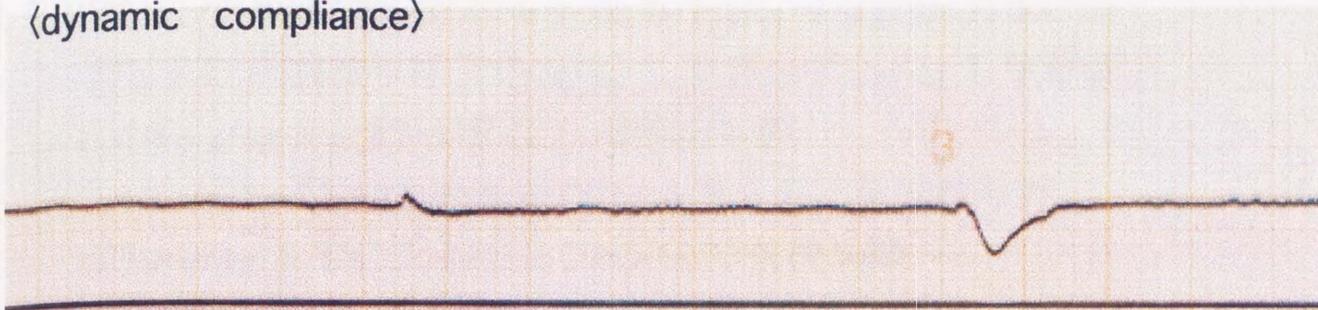
Figure 5. Experimental procedure (2)

C: Effect of intravenous administration of 3 and 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ONO-NT-126 on the airway responses to 1.8 and 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ histamine induced by intravenous infusion of mediators (① $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ ② 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ ③ LTC₄ 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$).

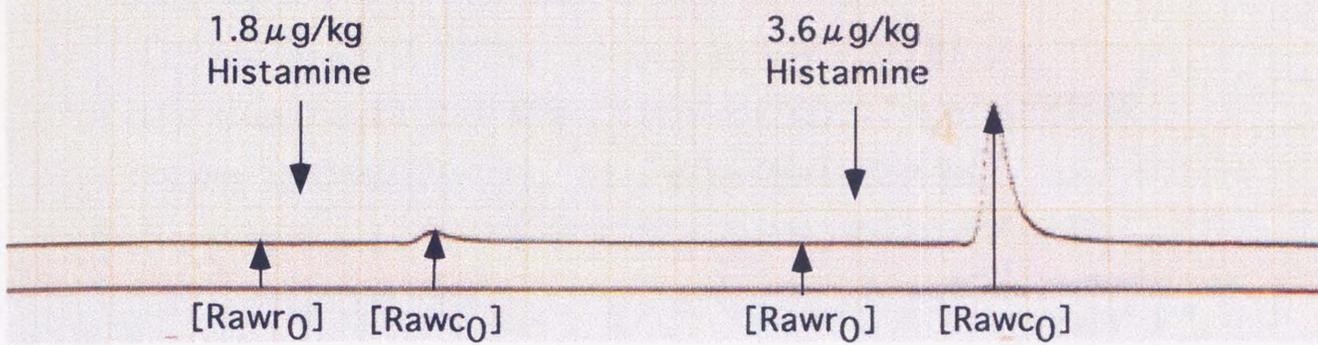
D: Effect of oral administration of 30 and 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ONO-8809 on the airway responses to 1.8 and 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ histamine induced by intravenous infusion of mediators (① $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ ② 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ ③ LTC₄ 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$).

〈before infusion of mediators〉

〈dynamic compliance〉

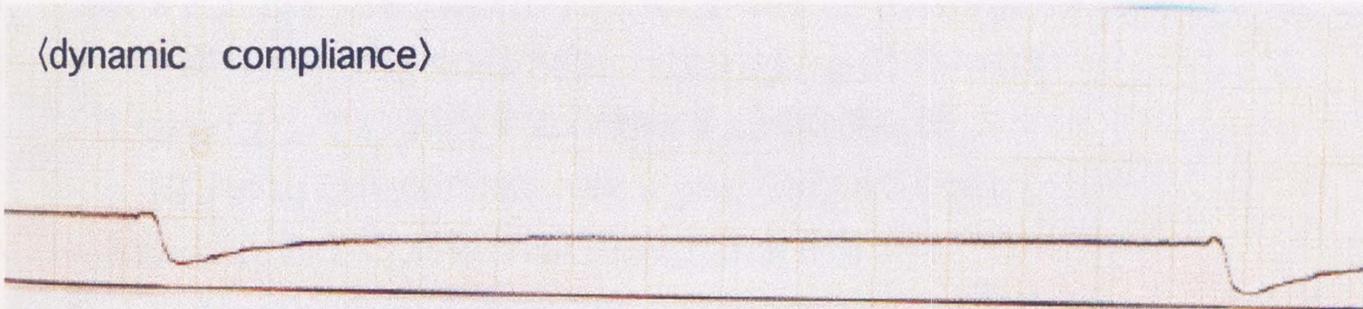


〈dynamic airway resistance〉



〈after infusion of mediators〉

〈dynamic compliance〉



〈dynamic airway resistance〉

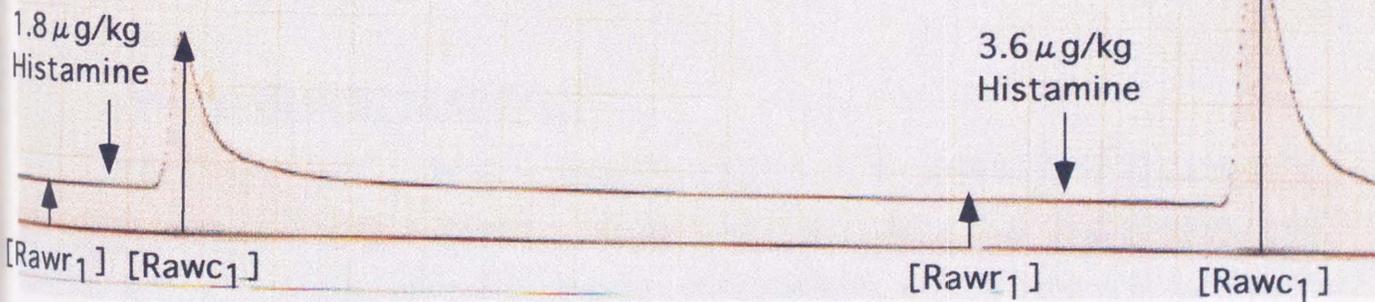


Figure 6. Measurement of dynamic airway resistance

- ② LTC₄ 単独投与群 (1 μg/kg LTC₄、3 μg/kg LTC₄)
 - ③ LTD₄ 単独投与群 (1 μg/kg LTD₄、3 μg/kg LTD₄)
 - ④ 10 μg/kg 9α,11β-PGF₂ 単独投与群
 - ⑤ 10 μg/kg 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} 単独投与群
 - ⑥ 3 μg/kg LTC₄ に対する ONO-1078 前投与群
(10 μg/kg ONO-1078、100 μg/kg ONO-1078)
 - ⑦ 3 μg/kg LTD₄ に対する ONO-1078 前投与群
(10 μg/kg ONO-1078、100 μg/kg ONO-1078)
 - ⑧ 10 μg/kg 9α,11β-PGF₂ に対する ONO-NT-126 前投与群
(3 μg/kg ONO-NT-126、10 μg/kg ONO-NT-126)
 - ⑨ 10 μg/kg 9α,11β-PGF₂ に対する ONO-8809 前投与群
(30 μg/kg ONO-8809、100 μg/kg ONO-8809)
 - ⑩ 10 μg/kg 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} に対する ONO-NT-126 前投与群
(3 μg/kg ONO-NT-126、10 μg/kg ONO-NT-126)
 - ⑪ 10 μg/kg 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} に対する ONO-8809 前投与群
(30 μg/kg ONO-8809、100 μg/kg ONO-8809)
 - ⑫ 3 μg/kg LTC₄ に対する ONO-NT-126 前投与群
(3 μg/kg ONO-NT-126、10 μg/kg ONO-NT-126)
 - ⑬ 3 μg/kg LTC₄ に対する ONO-8809 前投与群
(30 μg/kg ONO-8809、100 μg/kg ONO-8809)
- について検討を行い、各群6匹のモルモットを用いた。

4) 気道過敏性測定法

実験に先だって、塚越らが報告 (132) した気道粘膜浮腫の気道反応性に及ぼす影響を除外し、気道平滑筋の収縮率を気道過敏性の指標と考えることを可能にする式を用い気道過敏性を以下の如く評価した。すなわち、Poiseuilleの法則 (Figure 7) を用い、アラキドン酸代謝産物の投与前、すなわち粘膜浮腫のない状態の気道において、長さ l 、内径 R_{i_0} 、気体密度 μ 、気道抵抗 R_{aw_0} 、気道に占める気道粘膜の割合 proportion of airway wall thickness (PW) を PW_0 とし、低濃度のア

ラキドン酸代謝産物持続投与後、すなわち気道平滑筋が収縮せず粘膜浮腫のみが存在する状態の気道において、内径 R_{i_1} 、気道抵抗 R_{aw_1} 、気道に占める気道粘膜の割合を PW_1 とすると、同一個体においては、長さ、気体密度は等しいと考えられ、この場合は、

$$R_{aw_0} = 8 l \mu / \pi R_{i_0}^4 \dots \dots \dots \langle 1 \rangle$$

$$R_{aw_1} = 8 l \mu / \pi R_{i_1}^4 \dots \dots \dots \langle 2 \rangle$$

$$PW_0 = (\pi R_{e_0}^2 - \pi R_{i_0}^2) / \pi R_{e_0}^2 \dots \dots \dots \langle 3 \rangle$$

$$PW_1 = (\pi R_{e_1}^2 - \pi R_{i_1}^2) / \pi R_{e_1}^2 \dots \dots \dots \langle 4 \rangle$$

気道平滑筋は収縮しないため、気道外径の変化はなく

$$R_{e_0} = R_{e_1} \dots \dots \dots \langle 5 \rangle$$

であり、 PW_1 は $\langle 1 \rangle \sim \langle 5 \rangle$ より PW_0 、 R_{aw_0} 、 R_{aw_1} を用いて

$$PW_1 = 1 - \left\{ (1 - PW_0) / (R_{aw_1} / R_{aw_0})^{1/2} \right\} \dots \dots \dots \langle 6 \rangle$$

と表される。次に、気道平滑筋の収縮率を、Morenoらの式 (131)

により導いた。すなわち、気道平滑筋の収縮率を percentage of airway smooth muscle shortening (PMS)、気道全周に占める気道平滑筋の割合を amount of the airway perimeter occupied by smooth muscle (PMP)、気道に占める気道粘膜の割合を relative thickness of the airway wall (PW)、気道平滑筋弛緩時の気道周囲径を C_{er} 、気道外径を R_{er} 、気道内径を R_{ir} 、気道内腔面積を A_{ir} 、気道粘膜面積を W_{Ar} 、気道抵抗を R_{awr} とし、気道平滑筋収縮時の気道周囲径を C_{ec} 、気道外径を R_{ec} 、気道内径を R_{ic} 、気道内腔面積を A_{ic} 、気道粘膜面積を W_{Ac} 、気道抵抗を R_{awc} とすると (Figure 8)、

$$C_{er} = 2 \pi R_{er} \dots \dots \dots \langle 7 \rangle$$

$$C_{ec} = 2 \pi R_{ec} \dots \dots \dots \langle 8 \rangle$$

一方、気道平滑筋収縮時に気道周囲径の短縮する長さは $C_{er} \times PMS \times PMP$ と表すことが可能であるため、

$$C_{ec} = C_{er} - C_{er} \times PMS \times PMP \dots \dots \dots \langle 9 \rangle$$

よって、 $\langle 7 \rangle \sim \langle 9 \rangle$ を用いて

$$R_{ec} = R_{er} (1 - PMS \times PMP) \dots \dots \dots \langle 10 \rangle$$

と表すことができる。さらに、気道収縮時の気管支横断面が同心円

状と仮定すると、

$$A_{ir} = \pi R_{ir}^2 = \pi R_{er}^2 - W_{Ar} \dots \dots \dots \langle 11 \rangle$$

$$A_{ic} = \pi R_{ic}^2 = \pi R_{ec}^2 - W_{Ac} \dots \dots \dots \langle 12 \rangle$$

気管支収縮前後の気管支粘膜の面積に変化はないため

$$W_{Ar} = W_{Ac} \dots \dots \dots \langle 13 \rangle$$

一方、WAはPWを用いて

$$W_{Ar} = \pi R_{er}^2 \times PW \dots \dots \dots \langle 14 \rangle$$

と表されるため、 $\langle 10 \rangle \sim \langle 14 \rangle$ より、

$$R_{ir} = R_{er} (1 - PW)^{1/2} \dots \dots \dots \langle 15 \rangle$$

$$R_{ic} = R_{er} \{ (1 - PMS \times PMP)^2 - PW \}^{1/2} \dots \dots \langle 16 \rangle$$

また、 $\langle 1 \rangle$ 、 $\langle 2 \rangle$ より

$$R_{awc}/R_{awr} = (R_{ic}/R_{ir})^{-4} \dots \dots \dots \langle 17 \rangle$$

よって、 $\langle 15 \rangle \sim \langle 17 \rangle$ より

$$R_{awc}/R_{awr} = \{ (1 - PMS \times PMP)^2 - PW / 1 - PW \}^{-2}$$

と表され、気道粘膜に浮腫のない状態を (0)、浮腫の存在する状態を (1) とすると、

$$R_{aw_0c}/R_{aw_0r} = \{ (1 - PMS_0 \times PMP_0)^2 - PW_0 / 1 - PW_0 \}^{-2} \dots \dots \dots \langle 18 \rangle$$

$$R_{aw_1c}/R_{aw_1r} = \{ (1 - PMS_1 \times PMP_1)^2 - PW_1 / 1 - PW_1 \}^{-2} \dots \dots \dots \langle 19 \rangle$$

と表される。また、同一個体においては、気道全周に占める気道平滑筋の割合は等しいことより、

$$PMP_0 = PMP_1 \dots \dots \dots \langle 20 \rangle$$

したがって、気道に浮腫のない状態に対する浮腫の存在する状態の気道平滑筋の収縮率の比 PMS_1/PMS_0 は $\langle 18 \rangle \sim \langle 20 \rangle$ より

$$PMS_1/PMS_0$$

$$= \frac{1 - [\{ (1 - PW_1) / (R_{aw_1c}/R_{aw_1r})^{1/2} \} + PW_1]^{1/2}}{1 - [\{ (1 - PW_0) / (R_{aw_0c}/R_{aw_0r})^{1/2} \} + PW_0]^{1/2}} \dots \dots \dots$$

$\langle 21 \rangle$

と表すことができる。以上、 $\langle 6 \rangle$ 、 $\langle 21 \rangle$ を用いて、薬物投与前

のヒスタミンに対する気道平滑筋の収縮率を100%とし、薬物投与後の気道平滑筋の収縮率を、それに対する比 (PMS_1/PMS_0) で表示し、気道平滑筋収縮率の比、すなわち気道過敏性の指標とした。また、気道粘膜浮腫の指標を PW_1 とし、 PW_0 はJamesらの報告 (136) により健常者の PW_0 が0.1~0.2、気管支喘息患者の PW_0 が0.2~0.3であることより0.200と仮定した (尚、 PW_0 の値を0.1から0.3まで変動させ、各々の場合の気道平滑筋の収縮率の比を求めると、何れも同一の値を示すが、これは (6)、(21) より PW の値が相殺されることによるものであり、気道粘膜浮腫が形成されても気道平滑筋収縮率には影響を与えないことを示している)。以下の検討は気道粘膜浮腫の指標である PW と気道過敏性の指標である PMS_1/PMS_0 について行ったものである。

5) 気道粘膜浮腫形成に対する組織学的検討

一方、当実験で導入した気道粘膜浮腫の指標である PW に関して組織学的に検討を行うため、薬物持続注入開始30分前、および終了1時間後にモルモットを解剖、肺を摘出し10%(v/v)ホルマリンで固定した。次に1匹のモルモットから主気管支 (MB)、中間気管支 (IB)、末梢気管支 (PB) それぞれ2、3の横断切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色を行った (Figure 9)。本実験系においては持続投与するアラキドン酸代謝産物は気管支を収縮させない低濃度であることが条件のため、まず顕微鏡下に気道平滑筋に収縮反応のないことを確認した。次にできた標本から気道粘膜の面積を測定するため、Jamesらの報告 (136) に従い、気道内腔面より定められた気道内周囲径 (P_i) と内腔面積 (A_i) および気道平滑筋の外周より定められた気道外周囲径 (P_e) と外周面積 (A_e) を digitizer (COSMOZONE-98、Nikon Corporation) を用いて測定した (Figure 10)。気道粘膜浮腫の指標である PW は

$$PW = (A_e - A_i) / A_e$$

と表せるが、測定時には気道平滑筋は弛緩していると考えられるた

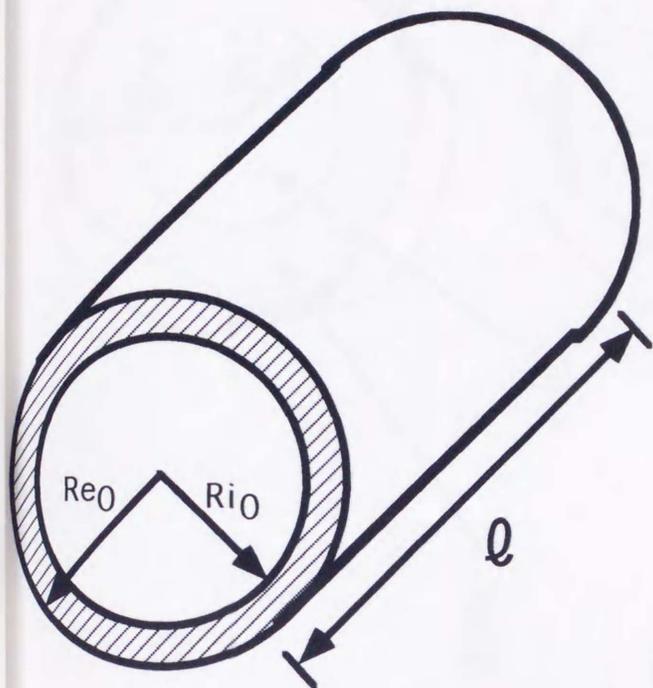
め、以下の如く変換可能である。

$$\begin{aligned}PW &= (A_e - A_i) / A_e \\ &= (A_e - A_i) / (A_i + A_e - A_i) \\ &= (A_e - A_i) / (P_i^2 / 4\pi + A_e - A_i) \\ &= 4\pi (A_e - A_i) / \{P_i^2 + 4\pi (A_e - A_i)\}\end{aligned}$$

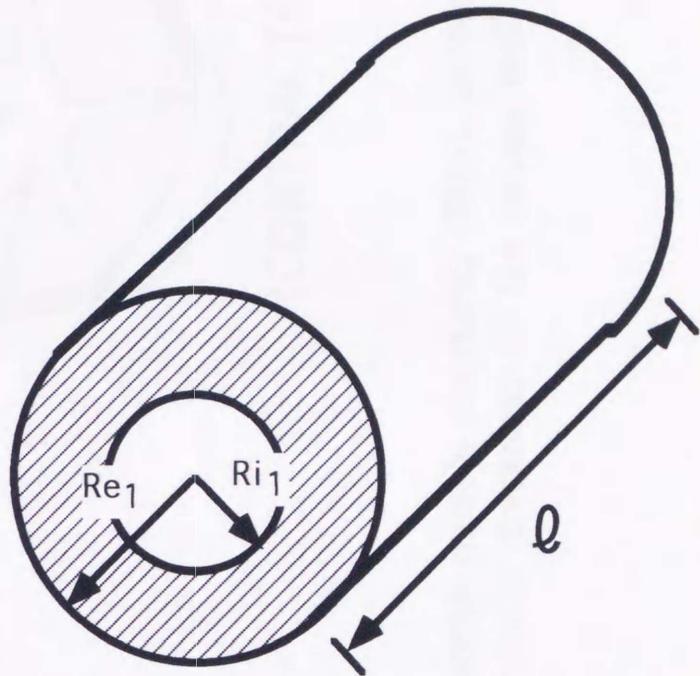
上記のパラメータに測定値を挿入し、PWを計算した。

6) 推計学的検討

実験結果はすべてmean±S.E.で表した。統計的処理に際し、まずF検定を行い、分散に差のないことを確認した後、Student's unpaired t-testを用いて有意差検定を行った。その際、Pが0.05未満を有意差ありとした。



$$Raw_0 = \frac{8 \ell \mu}{\pi Ri_0^4}$$



$$Raw_1 = \frac{8 \ell \mu}{\pi Ri_1^4}$$

Figure 7. Relationship between airway resistance (R_{aw}) and internal radius of airway (R_i) from Poiseuille's law.

ℓ : length of airway, μ : density of air

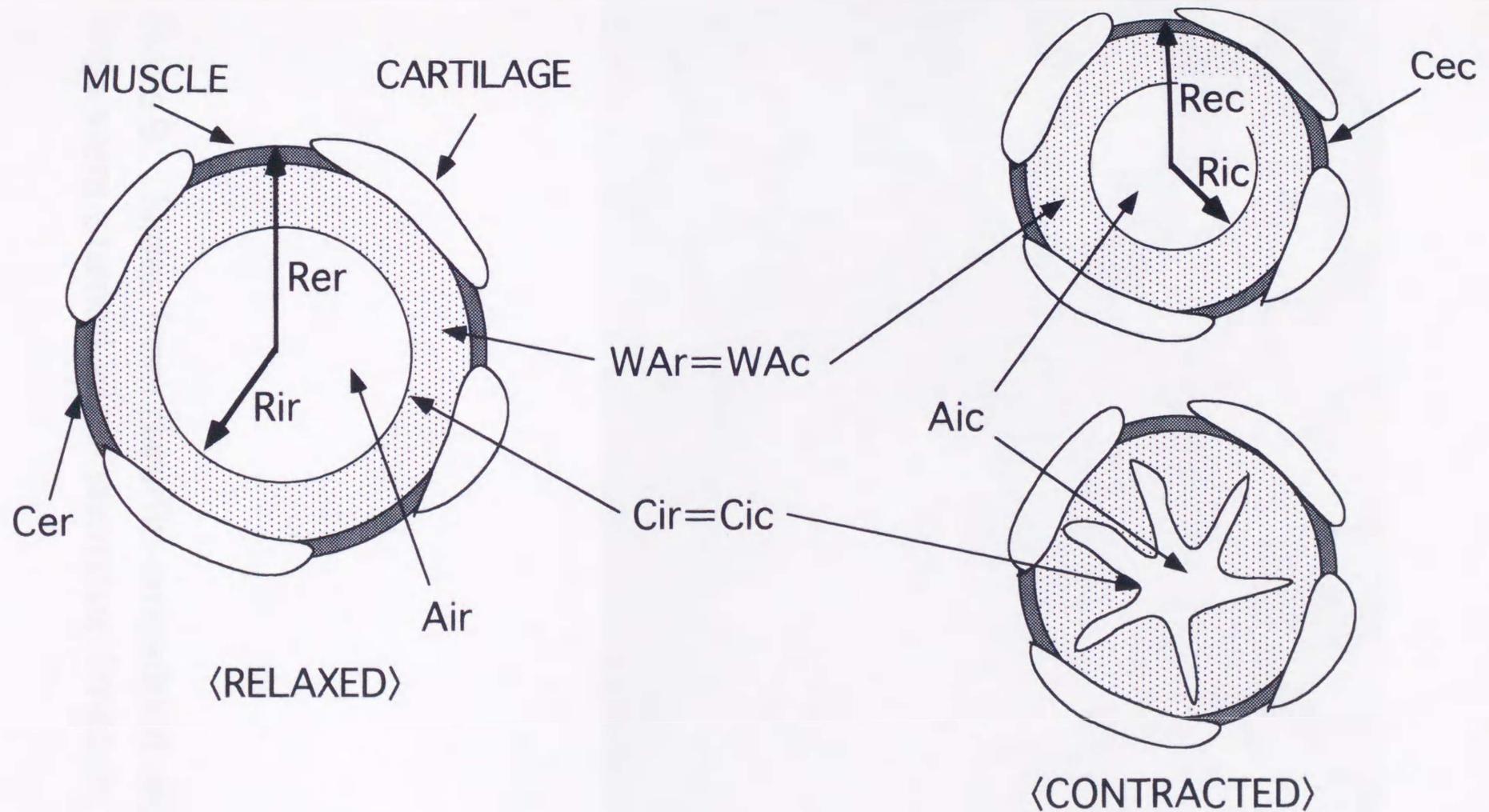


Figure 8. Relationship between airway resistance (R_{aw}), smooth muscle shortening (PMS), amount of the airway perimeter occupied by smooth muscle (PMP) and relative thickness of the airway wall (PW) described by Moreno and associates.

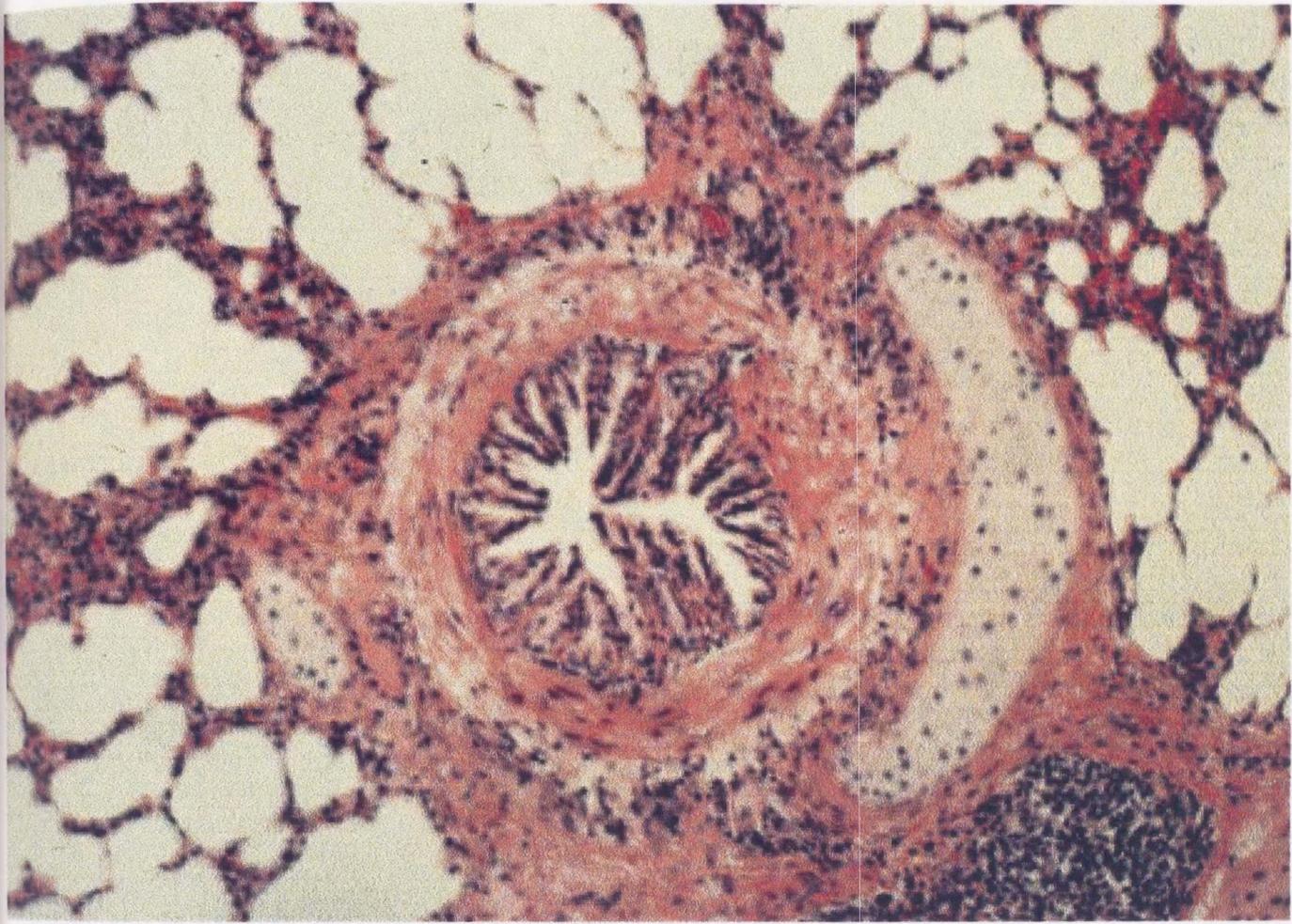
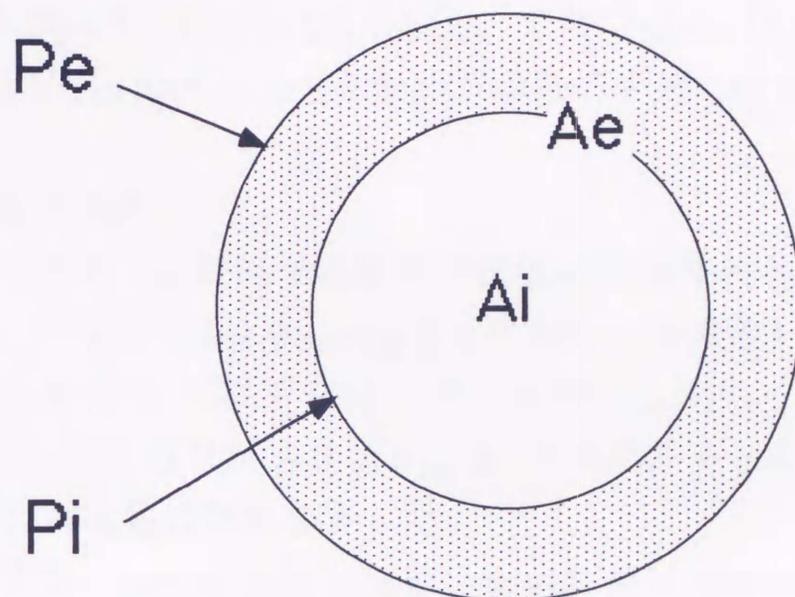


Figure 9. Slides from paraffin-embedded sections of the lungs were stained with haematoxylin-eosin



<digitizer>



P_e : External perimeter

P_i : Internal perimeter

A_e : Area circled by external circumference

A_i : Area circled by internal circumference

$$PW = (A_e - A_i) / A_e$$

$$= 4\pi(A_e - A_i) / \{P_i^2 + 4\pi(A_e - A_i)\}$$

Figure 10. Measurement and calculation of PW

Ⅲ 結果

1 アラキドン酸代謝産物静脈内持続投与の影響

1) 生理的食塩液液（対照群）静脈内持続投与

①気道粘膜浮腫形成作用

生理的食塩液（以下生食液）投与前の PW_0 を0.200と仮定した場合、生食液投与後の PW_1 は 0.201 ± 0.004 であった。組織学的検討では気道平滑筋の収縮はなく、生食投与前のPWはMBにおいては 0.173 ± 0.023 、IBでは 0.176 ± 0.012 、PBでは 0.174 ± 0.012 であり、生食液投与後のPWはMBでは 0.177 ± 0.020 、IBでは 0.145 ± 0.018 、PBでは 0.166 ± 0.011 であり、生食液投与前後のPWに有意差は認めなかった。

②気道過敏性亢進作用

薬物投与前のヒスタミンに対する気道平滑筋の収縮率投与 PMS_0 を100%とすると、ヒスタミン $1.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与に対し、生食液 $10 \text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$ 投与群の PMS_1/PMS_0 （以下PMS比）は $93.0 \pm 5.2\%$ 、ヒスタミン $3.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与に対するPMS比は $97.9 \pm 5.8\%$ であり、生食液投与前後のPMS比に有意差は認めなかった。

以上より生食液投与はモルモット気道において気道粘膜浮腫形成および気道平滑筋収縮率の増加作用にほぼ影響を与えず、対照群として適しているものと考えられた。

2) $LT C_4$ 静脈内持続投与

①気道粘膜浮腫形成作用

$1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ $LT C_4$ 投与25分後の PW_1 は 0.230 ± 0.017 、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ $LT C_4$ 投与25分後の PW_1 は 0.286 ± 0.020 で、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ $LT C_4$ 投与群の PW_1 は生食液（ $10 \text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$ ）投与25分後の PW_1 0.201 ± 0.004 と比較し、有意に高値を示した（ $p < 0.01$ ）（Figure 11）。組

織学的検討ではLTC₄投与後において気道平滑筋の収縮はなく、PWはMBにおいて 0.190 ± 0.027 、IBでは 0.187 ± 0.045 、PBでは 0.208 ± 0.016 であり、PBにおいてLTC₄投与群は対照群と比較し有意にPWの増加を認めた ($p < 0.05$) (Table 2)。

②気道過敏性亢進作用

ヒスタミン $1.8 \mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTC₄投与群のPMS比は $512.5 \pm 110.0\%$ で、生食液 ($10\text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与群のPMS比 $93.0 \pm 5.2\%$ と比較し、有意に高値を示した ($p < 0.01$)。また、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTC₄投与群のPMS比は $894.6 \pm 130.4\%$ で生食液投与群と比較し有意に高値を示し ($p < 0.01$)、PMS比の増加はLTC₄の濃度に依存した。ヒスタミン $3.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTC₄投与群のPMS比は $213.7 \pm 36.2\%$ 、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTC₄投与群のPMS比は $655.6 \pm 184.8\%$ で、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTC₄投与群のPMS比は生食液投与群のPMS比 $97.9 \pm 5.8\%$ と比較し、有意に高値を示し ($p < 0.01$)、PMS比の増加はLTC₄の濃度に依存した (Figure 12)。

以上より、 $1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ および $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTC₄静脈内持続投与はモルモット気道に対し気道粘膜浮腫を形成し、ヒスタミン静脈内投与による気道平滑筋の収縮率を増加させ、気道過敏性を亢進させた。

3) LTD₄静脈内持続投与

①気道粘膜浮腫形成作用

$1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD₄投与25分後のPW₁は 0.221 ± 0.102 、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD₄投与25分後のPW₁は 0.367 ± 0.033 で、 $3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD₄投与群のPW₁は生食液 ($10\text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与25分後のPW₁ 0.201 ± 0.004 と比較し、有意に高値を示した ($p < 0.05$) (Figure 13)。組織学検討ではLTD₄投与後において気道平滑筋の収縮はなく、PWはMBにおいて 0.199 ± 0.027 、IBでは 0.182 ± 0.031 、PBでは 0.209 ± 0.019 で、PBにおいてLTD₄投与群は対照群と比較して有意にPWの増加を認めた ($p < 0.05$) (Table 3)。

PW₁

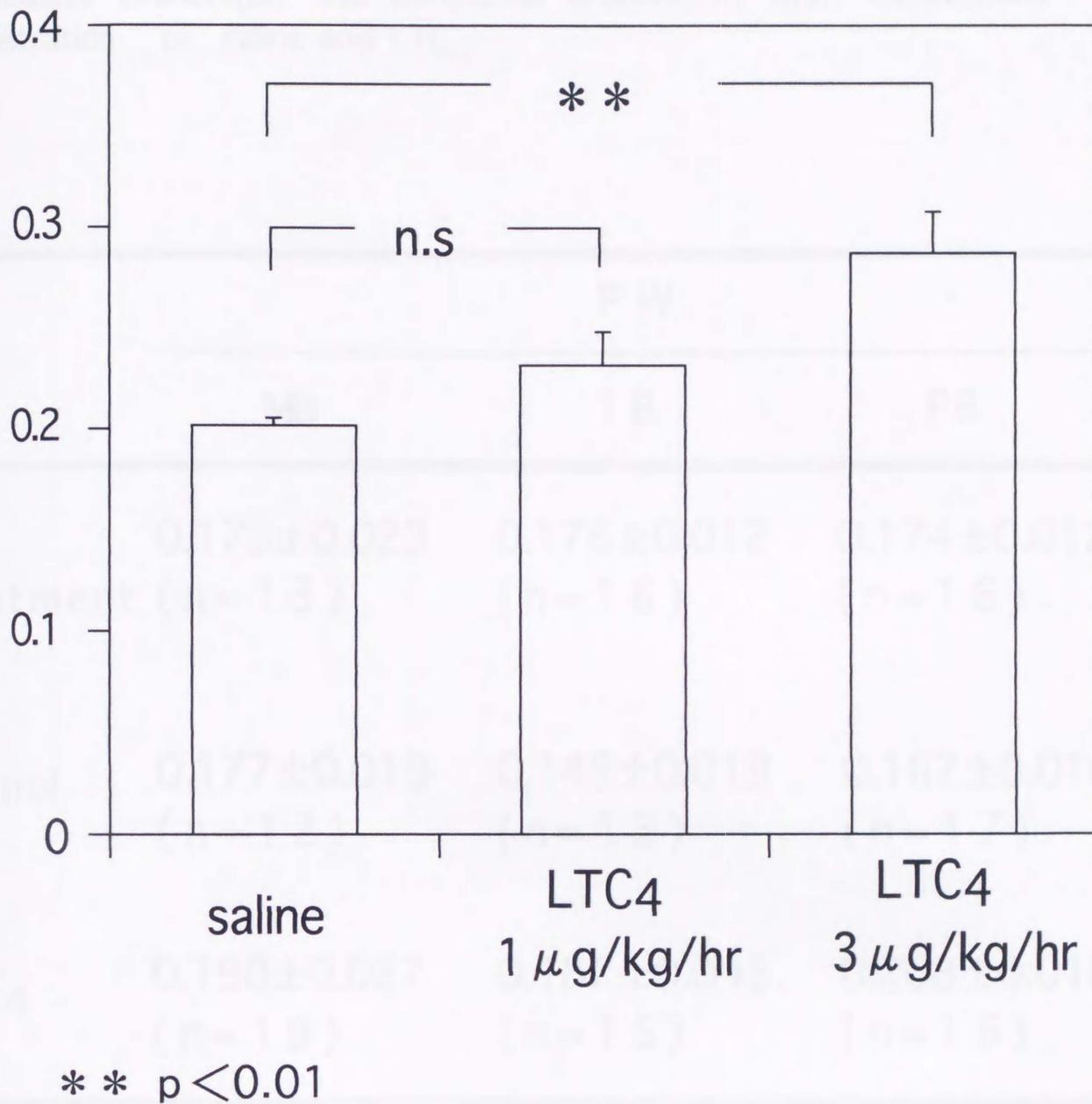
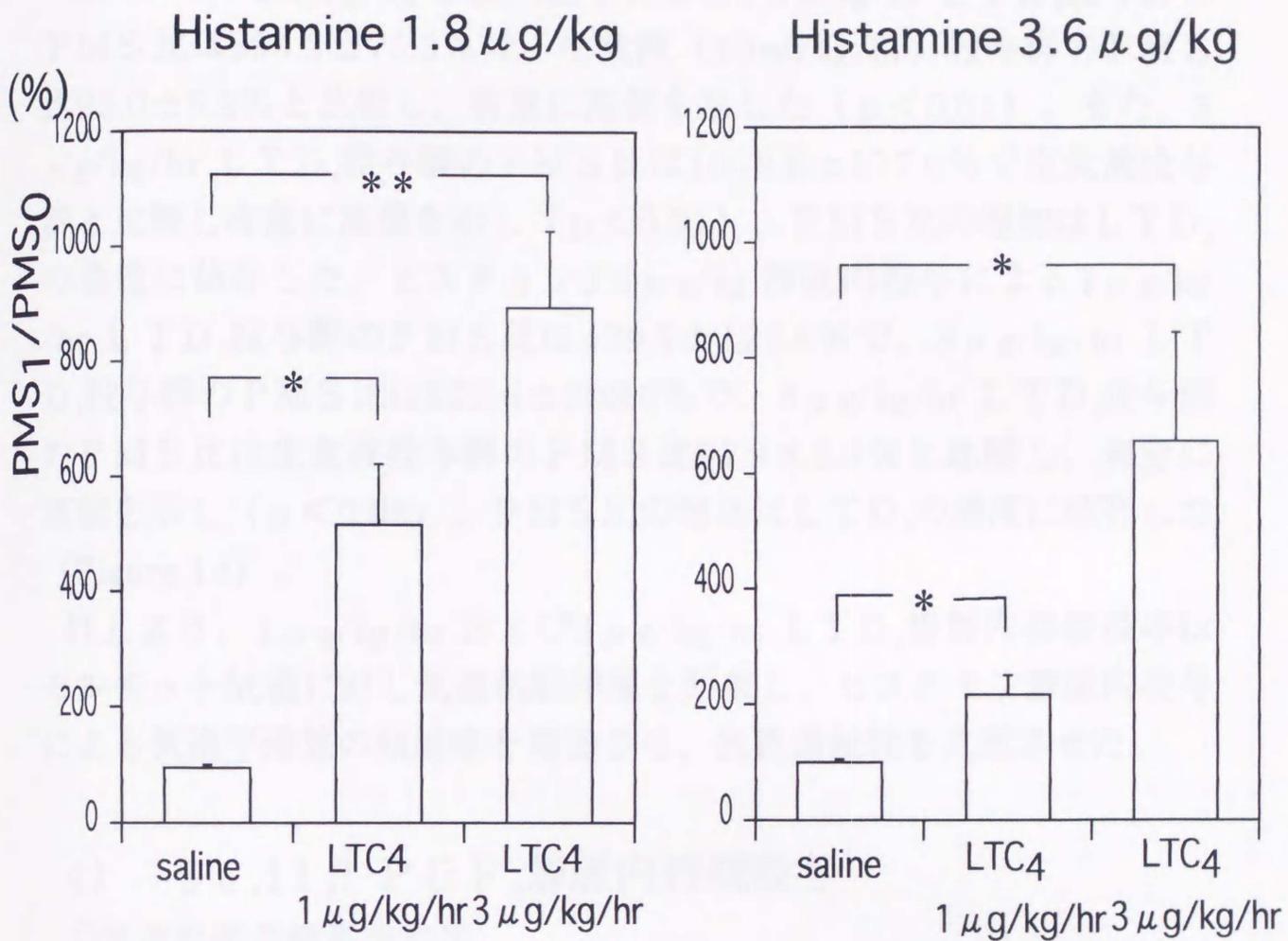


Figure 11. Changes in PW₁ by intravenous administration of saline and LTC₄

Table 2. Relative thickness of the airway wall (PW) in main bronchi(MB), intermediate bronchi(IB) and peripheral bronchi(PB) after intravenous administration of saline and LTC₄

	P W		
	MB	I B	PB
Non treatment (n=13)	0.173±0.023	0.176±0.012 (n=16)	0.174±0.012 (n=16)
Control (n=12)	0.177±0.019	0.145±0.019 (n=13)	0.167±0.010 (n=17)
LTC ₄ (n=19)	0.190±0.027	0.187±0.045 (n=15)	0.208±0.016* (n=16)

*Statistically significant difference from the control at p<0.05



* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

Figure 12. Changes of PMS₁/PMS₀ induced by intravenous administration of saline and LTC₄

②気道過敏性亢進作用

ヒスタミン $1.8\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD_4 投与群のPMS比は $394.2\pm 75.3\%$ で、生食液 ($10\text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与群のPMS比 $93.0\pm 5.2\%$ と比較し、有意に高値を示した ($p<0.01$)。また、 $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD_4 投与群のPMS比は $1058.6\pm 177.0\%$ で生食液投与群と比較し有意に高値を示し ($p<0.01$)、PMS比の増加は LTD_4 の濃度に依存した。ヒスタミン $3.6\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD_4 投与群のPMS比は $439.9\pm 126.5\%$ で、 $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD_4 投与群のPMS比は $923.6\pm 208.6\%$ で、 $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD_4 投与群のPMS比は生食液投与群のPMS比 $97.9\pm 5.8\%$ と比較し、有意に高値を示し ($p<0.05$)、PMS比の増加は LTD_4 の濃度に依存した (Figure 14)。

以上より、 $1\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ および $3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$ LTD_4 静脈内持続投与はモルモット気道に対し気道粘膜浮腫を形成し、ヒスタミン静脈内投与による気道平滑筋の収縮率を増加させ、気道過敏性を亢進させた。

4) $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 静脈内持続投与

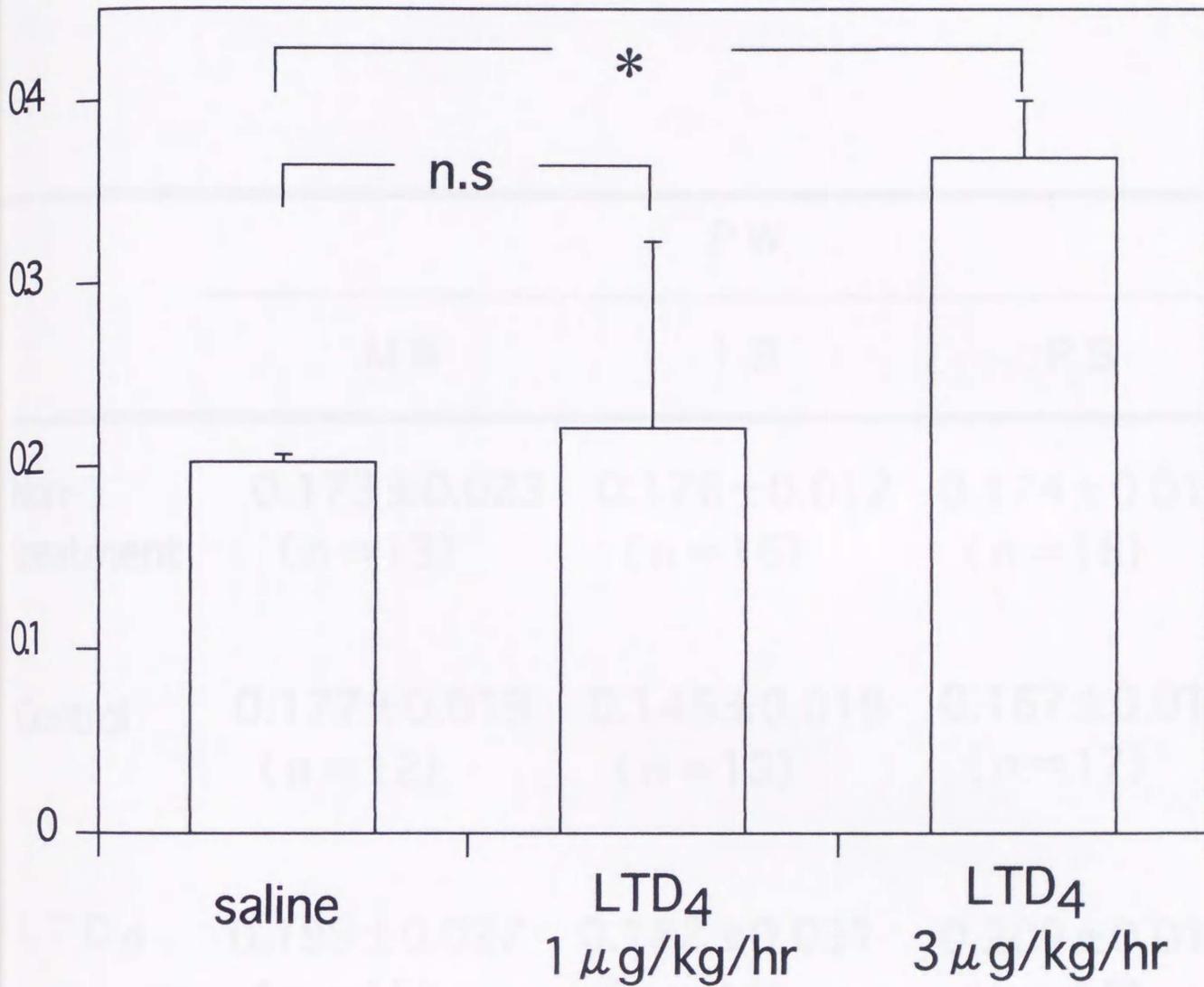
①気道粘膜浮腫形成作用

$9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ ($10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与25分後の PW_1 は 0.246 ± 0.009 で、生食液 ($10\text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与25分後の PW_1 0.201 ± 0.004 と比較し、有意に高値を示した ($p<0.01$) (Figure 15)。組織学検討では $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 投与後において気道平滑筋の収縮はなく、PWはMBにおいて 0.174 ± 0.011 、IBでは 0.154 ± 0.012 、PBでは 0.194 ± 0.008 で、PBにおいて $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 投与群は対照群と比較しPWの有意な増加を認めた ($p<0.05$) (Table 4)。

②気道過敏性亢進作用

ヒスタミン $1.8\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ ($10\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与群のPMS比は $765.5\pm 92.9\%$ で、生食液 ($10\text{ml}/\text{kg}/\text{hr}$) 投与群のPMS比 $93.0\pm 5.2\%$ と比較し、有意に高値を示した ($p<0.01$)。また、ヒスタミン $3.6\mu\text{g}/\text{kg}$ 静脈内投与による $9\alpha,11\beta\text{-PG}$

PW₁



* $p < 0.05$

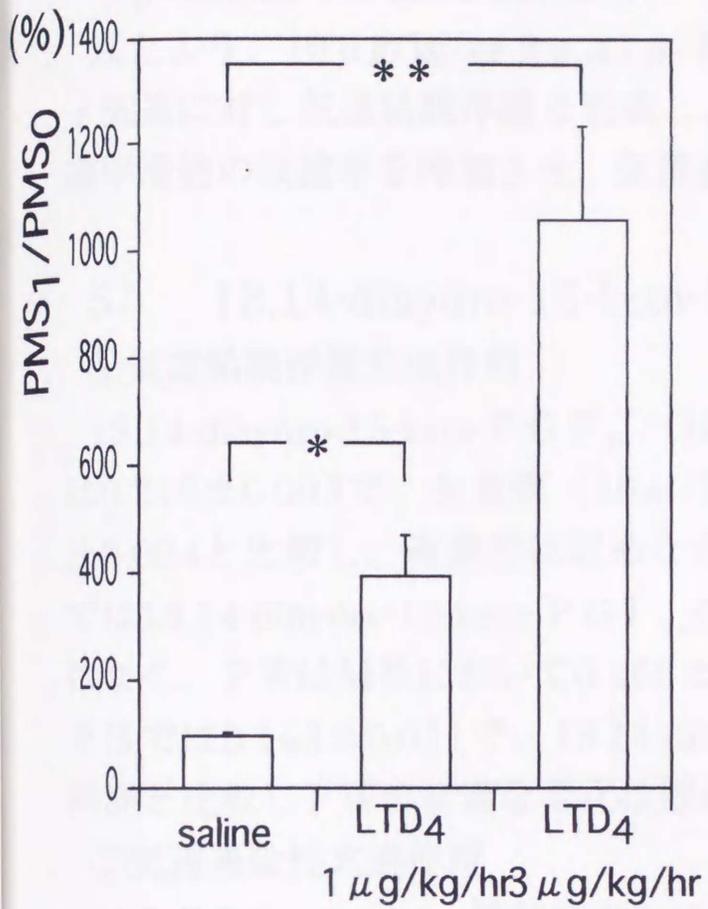
Figure 13. Changes of PW₁ by intravenous administration of saline and LTD₄

Table 3. Relative thickness of the airway wall (PW) in main bronchi(MB), intermediate bronchi(IB) and peripheral bronchi(PB) after intravenous administration of saline and LTD₄

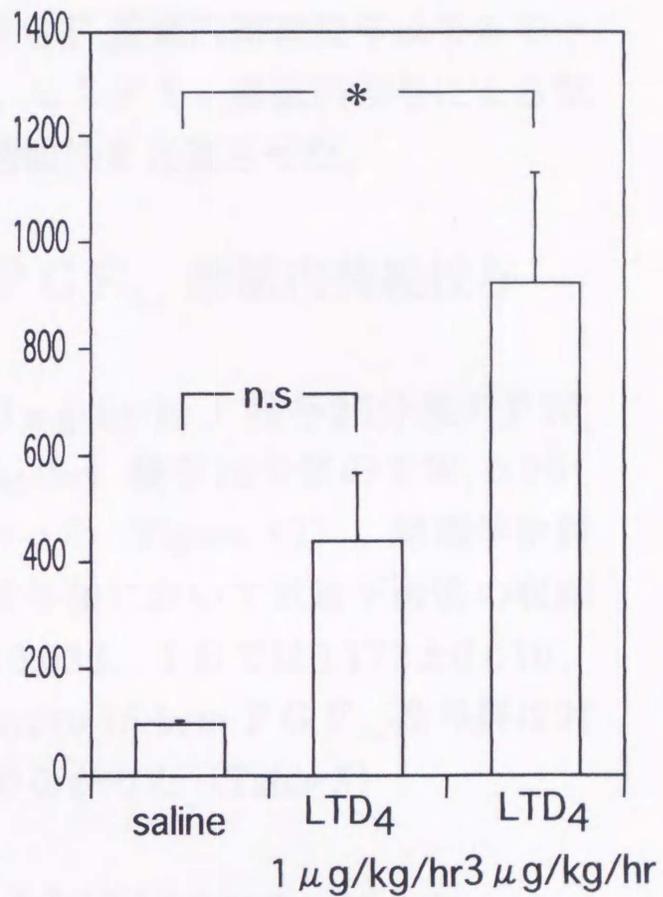
	P W		
	M B	I B	P B
Non-treatment	0.173±0.023 (n=13)	0.176±0.012 (n=16)	0.174±0.012 (n=16)
Control	0.177±0.019 (n=12)	0.145±0.019 (n=13)	0.167±0.010 (n=17)
L T D ₄	0.199±0.027 (n=15)	0.182±0.031 (n=14)	0.209±0.019* (n=18)

*Statistically significant difference from the control at $p < 0.05$

Histamine 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$



Histamine 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$



* $p < 0.05$

Figure 14. Changes of PMS₁/PMS₀ induced by intravenous administration of saline and LTD₄

F₂投与群のPMS比は449.8±95.2%で、生食液投与群のPMS比97.9±5.8%と比較し、有意に高値を示した

($p < 0.01$) (Figure 16)。

以上より、10 μ g/kg/hr 9 α ,11 β -PGF₂静脈内持続投与はモルモット気道に対し気道粘膜浮腫を形成し、ヒスタミン静脈内投与による気道平滑筋の収縮率を増加させ、気道過敏性を亢進させた。

5) 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 静脈内持続投与

①気道粘膜浮腫形成作用

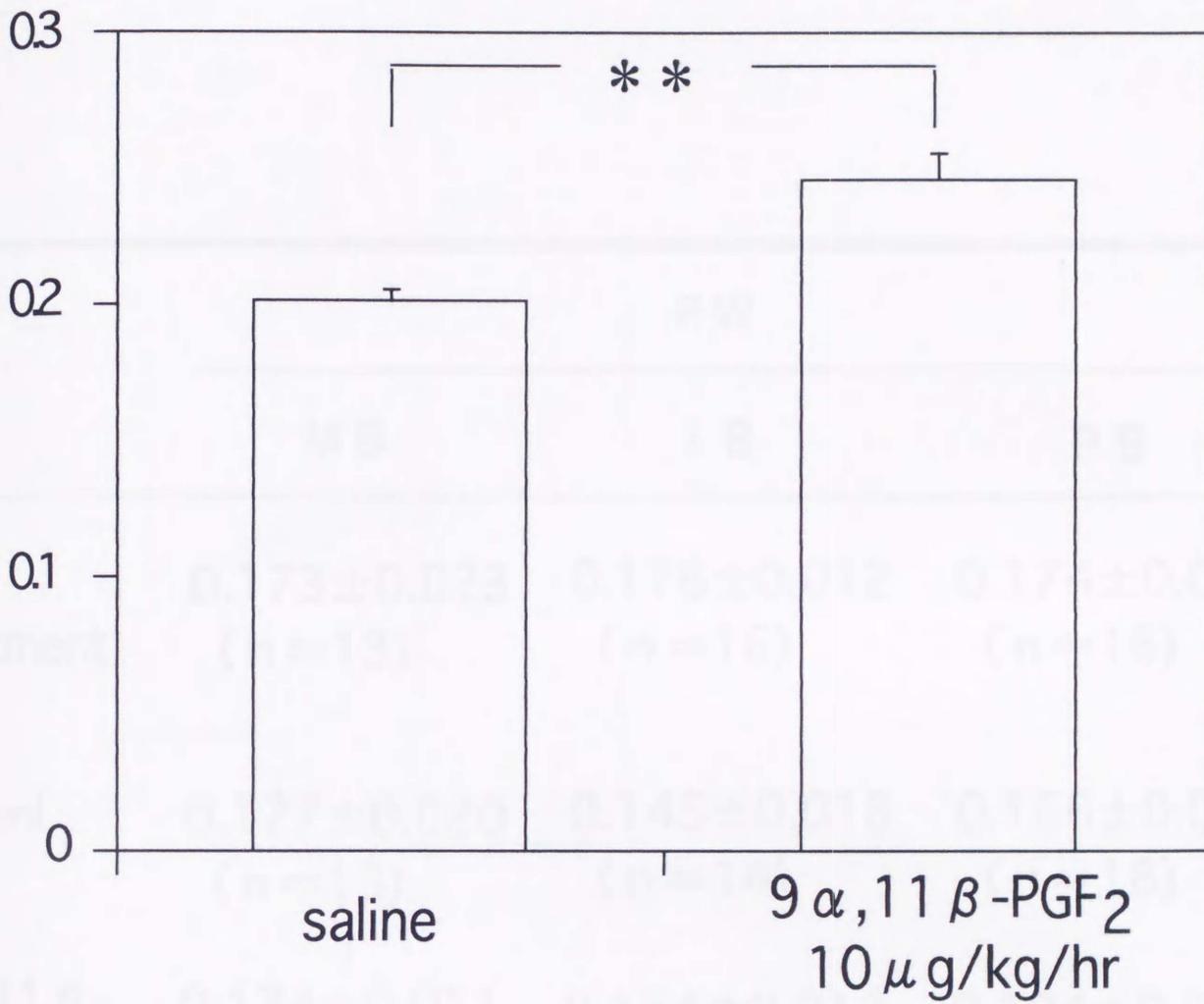
13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} (10 μ g/kg/hr) 投与25分後のPW₁は0.210±0.003で、生食液 (10ml/kg/hr) 投与25分後のPW₁ 0.201±0.004と比較し、有意差は認めなかった (Figure 17)。組織学検討では13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 投与後において気道平滑筋の収縮はなく、PWはMBにおいて0.166±0.036、IBでは0.172±0.010、PBでは0.163±0.011で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 投与群は対照群と比較しPWの有意な変化は認めなかった (Table 5)。

②気道過敏性亢進作用

ヒスタミン1.8 μ g/kg 静脈内投与による13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} (10 μ g/kg/hr) 投与群のPMS比は448.0±72.8%で、生食液 (10ml/kg/hr) 投与群のPMS比93.0±5.2%と比較し、有意に高値を示した ($p < 0.01$)。また、ヒスタミン3.6 μ g/kg 静脈内投与による13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 投与群のPMS比は237.7±30.4%で、生食液投与群のPMS比97.9±5.8%と比較し、有意に高値を示した ($p < 0.01$) (Figure 18)。

以上より、10 μ g/kg/hr 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 静脈内持続投与はモルモット気道に対し気道粘膜浮腫を形成せず、ヒスタミン静脈内投与による気道平滑筋の収縮率を増加させ、気道過敏性を亢進させた。

PW₁



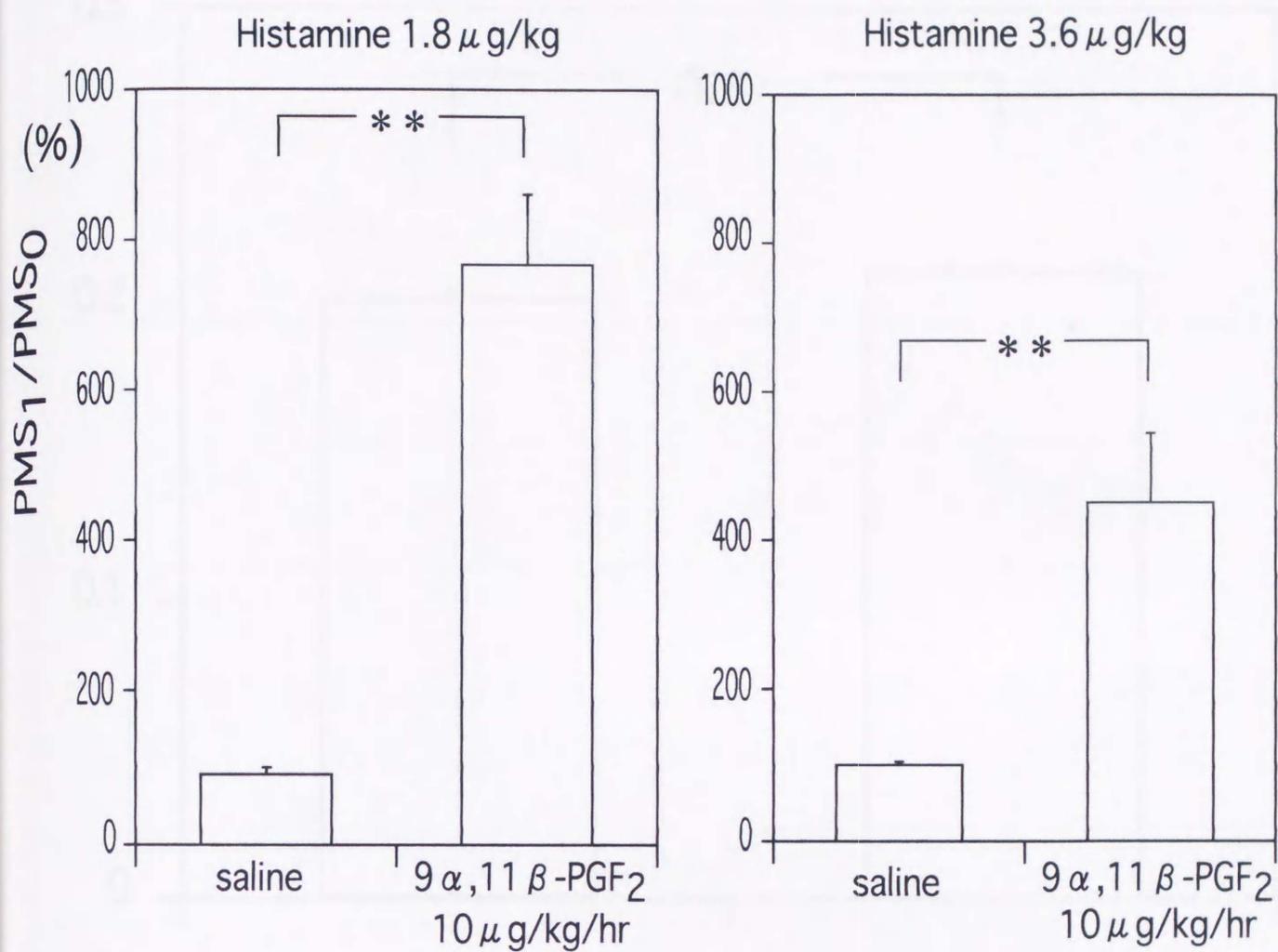
** p < 0.01

Figure 15. Changes of PW₁ induced by intravenous administration of saline and 9α,11β-PGF₂

Table 4. Relative thickness of the airway wall (PW) in main bronchi(MB), intermediate bronchi(IB) and peripheral bronchi(PB) after intravenous administration of $9\alpha,11\beta$ -PGF₂

	P W		
	M B	I B	P B
Non-treatment	0.173±0.023 (n=13)	0.176±0.012 (n=16)	0.174±0.012 (n=16)
Control	0.177±0.020 (n=13)	0.145±0.018 (n=14)	0.166±0.011 (n=18)
$9\alpha,11\beta$ -PGF ₂	0.174±0.011 (n=18)	0.154±0.012 (n=14)	0.194±0.008* (n=18)

* Statistically significant difference from the control at $p < 0.05$



** p < 0.01

Figure 16. Changes of PMS₁/PMS₀ induced by intravenous administration of saline and 9α,11β-PGF₂

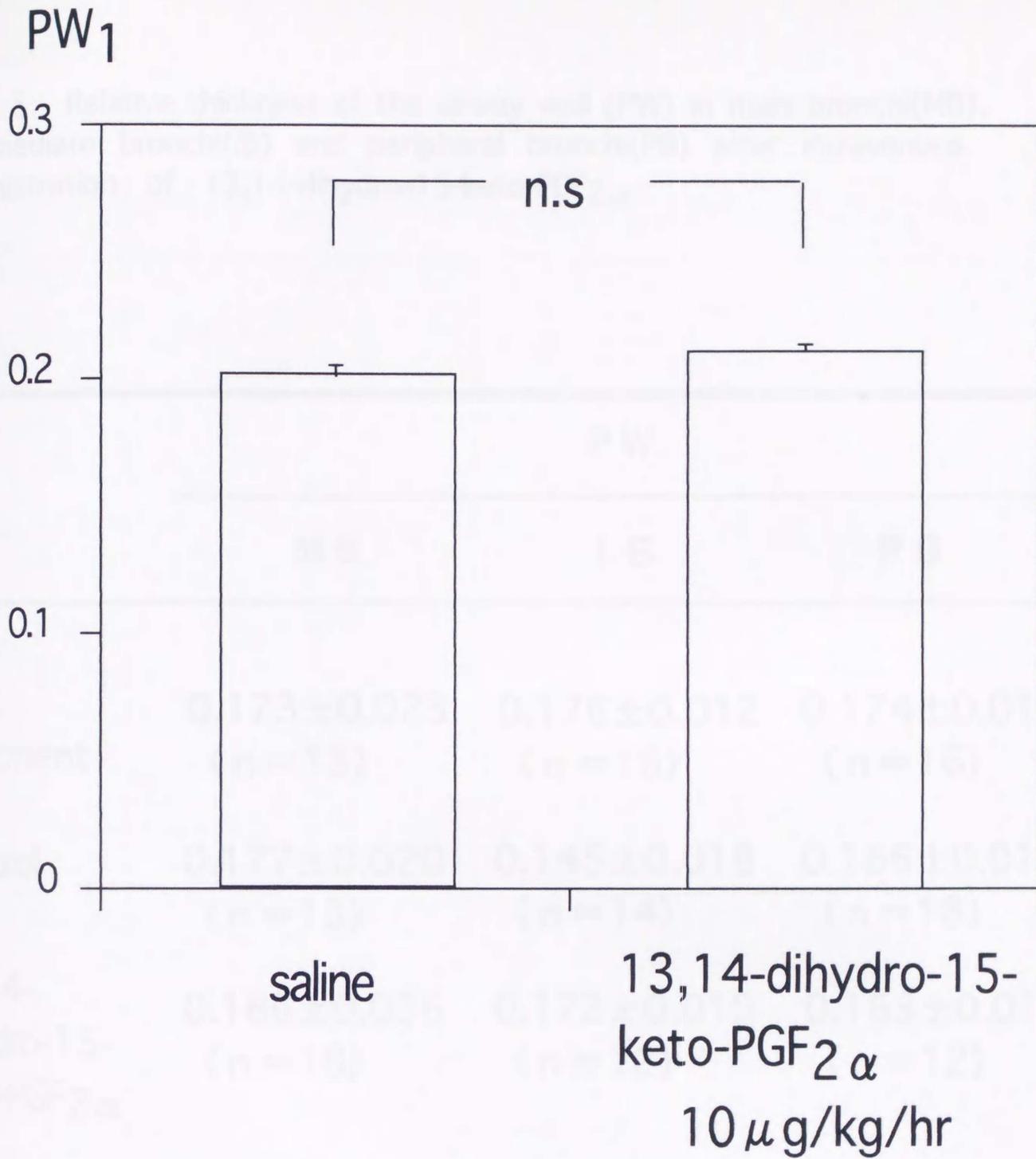


Figure 17. Changes of PW₁ induced by intravenous administration of saline and 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α

Table 5. Relative thickness of the airway wall (PW) in main bronchi(MB), intermediate bronchi(IB) and peripheral bronchi(PB) after intravenous administration of 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂α

	P W		
	M B	I B	P B
Non-treatment	0.173±0.023 (n=13)	0.176±0.012 (n=16)	0.174±0.012 (n=16)
Control	0.177±0.020 (n=13)	0.145±0.018 (n=14)	0.166±0.011 (n=18)
13,14-dihydro-15-keto-PGF ₂ α	0.166±0.036 (n=18)	0.172±0.010 (n=12)	0.163±0.011 (n=12)

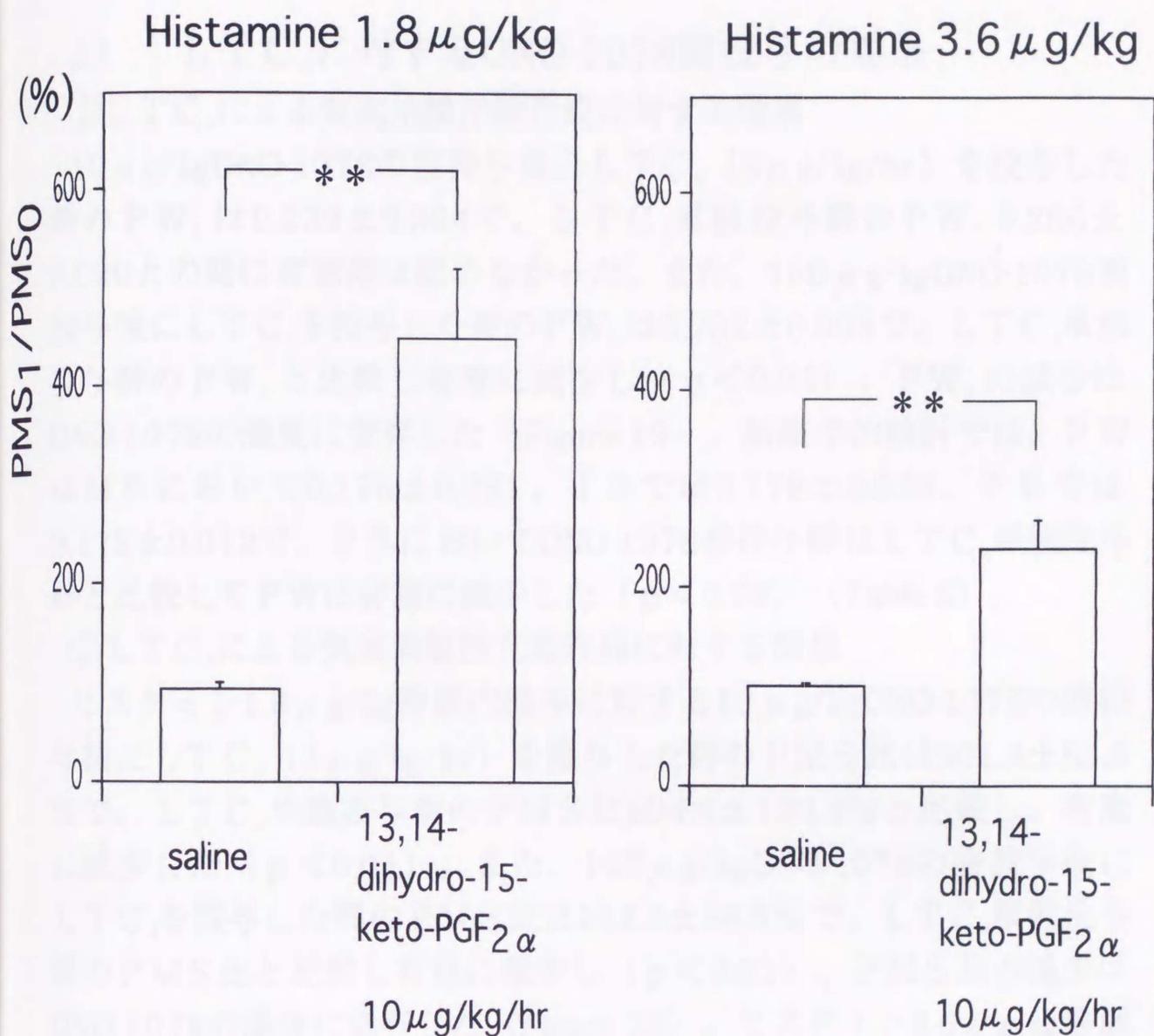


Figure 18. Changes of PMS₁/PMS₀ induced by intravenous administration of saline and 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α

2 LTC₄、LTD₄に対するLT受容体拮抗薬の効果

1) LTC₄に対するONO-1078前投与の効果

①LTC₄による気道粘膜浮腫形成に対する効果

10 μg/kgONO-1078の前投与後にLTC₄ (3 μg/kg/hr) を投与した群のPW₁は0.239±0.004で、LTC₄単独投与群のPW₁ 0.286±0.020との間に有意差は認めなかった。また、100 μg/kgONO-1078前投与後にLTC₄を投与した群のPW₁は0.202±0.005で、LTC₄単独投与群のPW₁と比較し有意に減少し (p<0.05)、PW₁の減少はONO-1078の濃度に依存した (Figure 19)。組織学的検討では、PWはMBにおいて0.176±0.031、IBでは0.178±0.028、PBでは0.172±0.012で、PBにおいてONO-1078前投与群はLTC₄単独投与群と比較してPWは有意に減少した (p<0.05) (Table 6)。

②LTC₄による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μg/kg静脈内投与に対する10 μg/kgONO-1078の前投与後にLTC₄ (3 μg/kg/hr) を投与した群のPMS比は501.8±63.5%で、LTC₄単独投与群のPMS比894.6±130.4%と比較し、有意に減少した (p<0.01)。また、100 μg/kgONO-1078の前投与後にLTC₄を投与した群のPMS比は168.8±38.5%で、LTC₄単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し (p<0.01)、PMS比の減少はONO-1078の濃度に依存した (Figure 20)。ヒスタミン3.6 μg/kg静脈内投与に対する10 μg/kgONO-1078の前投与後にLTC₄を投与した群のPMS比は321.0±52.9%で、LTC₄単独投与群のPMS比655.6±184.8%と比較し減少傾向を示したが有意差は認めなかった (p<0.1)。また、100 μg/kgONO-1078の前投与後にLTC₄を投与した群のPMS比は124.2±25.4%で、LTC₄単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し (p<0.05)、PMS比の減少はONO-1078の濃度に依存した (Figure 21)。

以上よりONO-1078前投与はモルモット気道におけるLTC₄による気道粘膜浮腫形成を濃度依存性に有意に抑制し、またLTC₄による

気道過敏性亢進作用を濃度依存性に有意に抑制した。

2) LTD₄に対するONO-1078前投与の効果

① LTD₄による気道粘膜浮腫形成に対する効果

10 μ g/kgONO-1078の前投与後にLTD₄ (3 μ g/kg/hr) を投与した群のPW₁は0.244 \pm 0.009で、LTD₄単独投与群のPW₁ 0.367 \pm 0.033と比較し有意に減少した ($p < 0.05$)。また、100 μ g/kgONO-1078前投与後にLTD₄を投与した群のPW₁は0.222 \pm 0.006で、LTD₄単独投与群のPW₁と比較し有意に減少し ($p < 0.05$)、PW₁の減少はONO-1078の濃度に依存した (Figure 22)。組織学的検討ではPWはMBにおいて0.175 \pm 0.022、IBでは0.178 \pm 0.028、PBでは0.173 \pm 0.014で、PBにおいてONO-1078前投与群はLTD₄単独投与群と比較しPWは有意に減少した ($p < 0.05$) (Table 7)。

② LTD₄による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μ g/kg静脈内投与に対する10 μ g/kgONO-1078の前投与後にLTD₄ (3 μ g/kg/hr) を投与した群のPMS比は467.9 \pm 20.9%で、LTD₄単独投与群のPMS比1058.6 \pm 177.0%と比較し、有意に減少した ($p < 0.05$)。また、100 μ g/kgONO-1078の前投与後にLTD₄を投与した群のPMS比は202.4 \pm 36.1%で、LTD₄単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し ($p < 0.05$)、PMS比の減少はONO-1078の濃度に依存した (Figure 23)。ヒスタミン3.6 μ g/kg静脈内投与に対する10 μ g/kgONO-1078の前投与後にLTD₄を投与した群のPMS比は301.7 \pm 70.8%で、LTD₄単独投与群のPMS比923.6 \pm 208.6%と比較し有意に減少した ($p < 0.05$)。また、100 μ g/kgONO-1078の前投与後にLTD₄を投与した群のPMS比は139.6 \pm 43.1%で、LTD₄単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し ($p < 0.05$)、PMS比の減少はONO-1078の濃度に依存した (Figure 24)。

以上よりONO-1078前投与はモルモット気道におけるLTD₄による気道粘膜浮腫形成を濃度依存性に有意に抑制し、またLTD₄による気道過敏性亢進作用を濃度依存性に有意に抑制した。

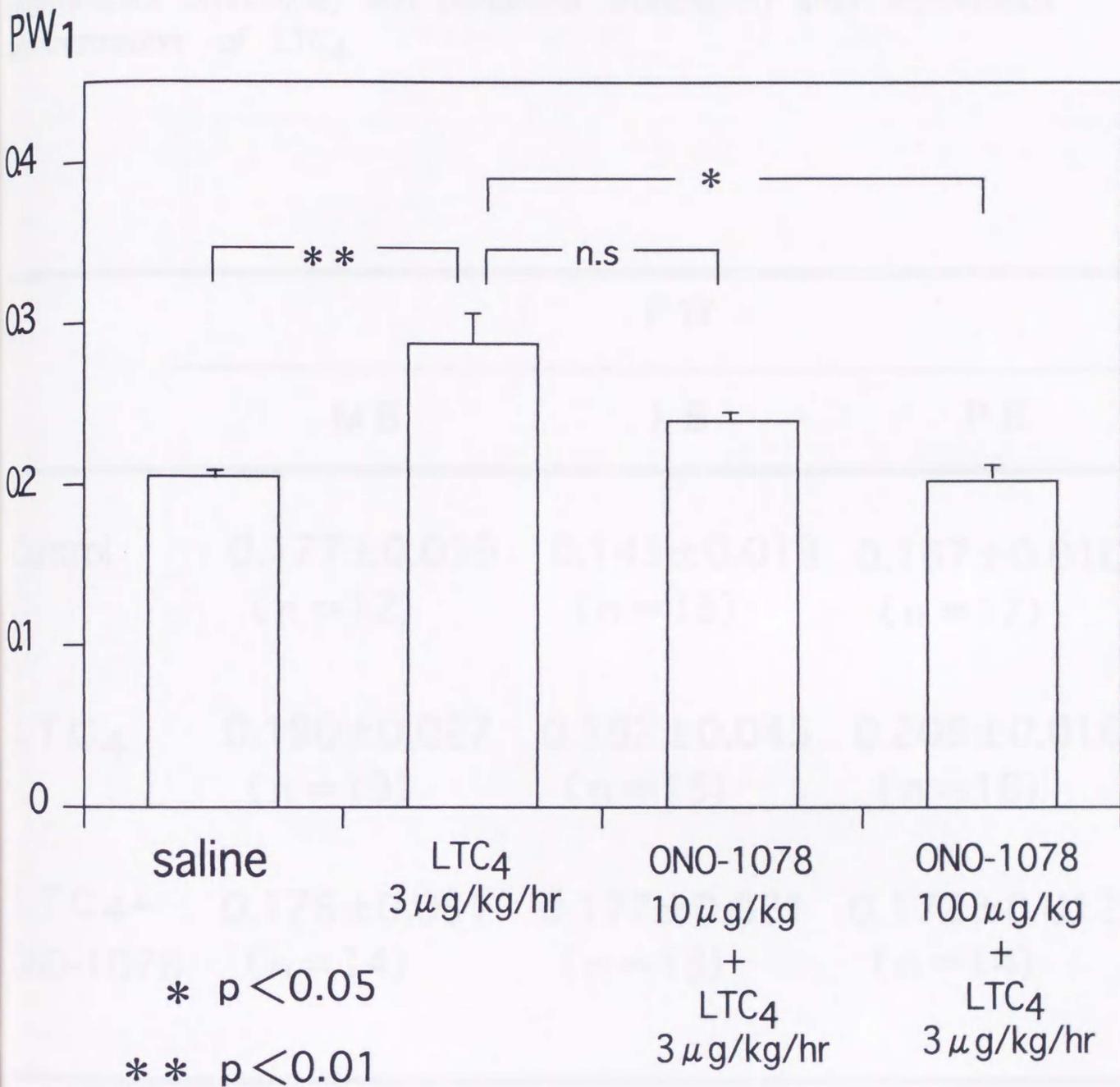


Figure 19. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PW₁ induced by LTC₄

Table 6. Relative thickness of the airway wall (PW) in main bronchi(MB), intermediate bronchi(IB) and peripheral bronchi(PB) after intravenous administration of LTC₄

	P W		
	M B	I B	P B
Control	0.177±0.019 (n=12)	0.145±0.019 (n=13)	0.167±0.010 (n=17)
LTC ₄	0.190±0.027 (n=19)	0.187±0.045 (n=15)	0.208±0.016 (n=16)
LTC ₄ + ONO-1078	0.176±0.031 (n=14)	0.177±0.021 (n=13)	0.172±0.012* (n=14)

*Statistically significant difference from the LTC₄ at p<0.05

Histamine 1.8 μ g/kg

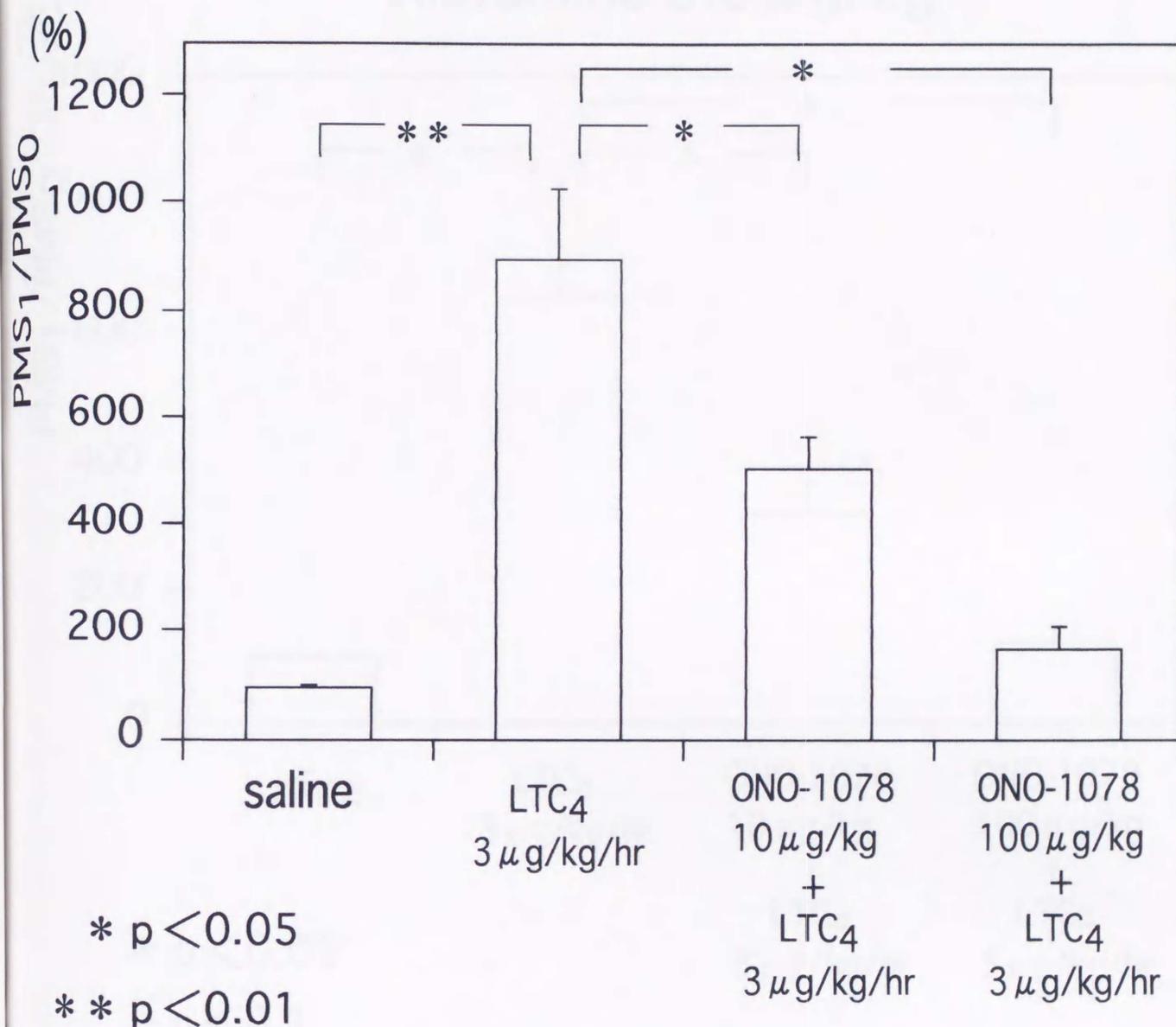


Figure 20. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTC₄

Histamine 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$

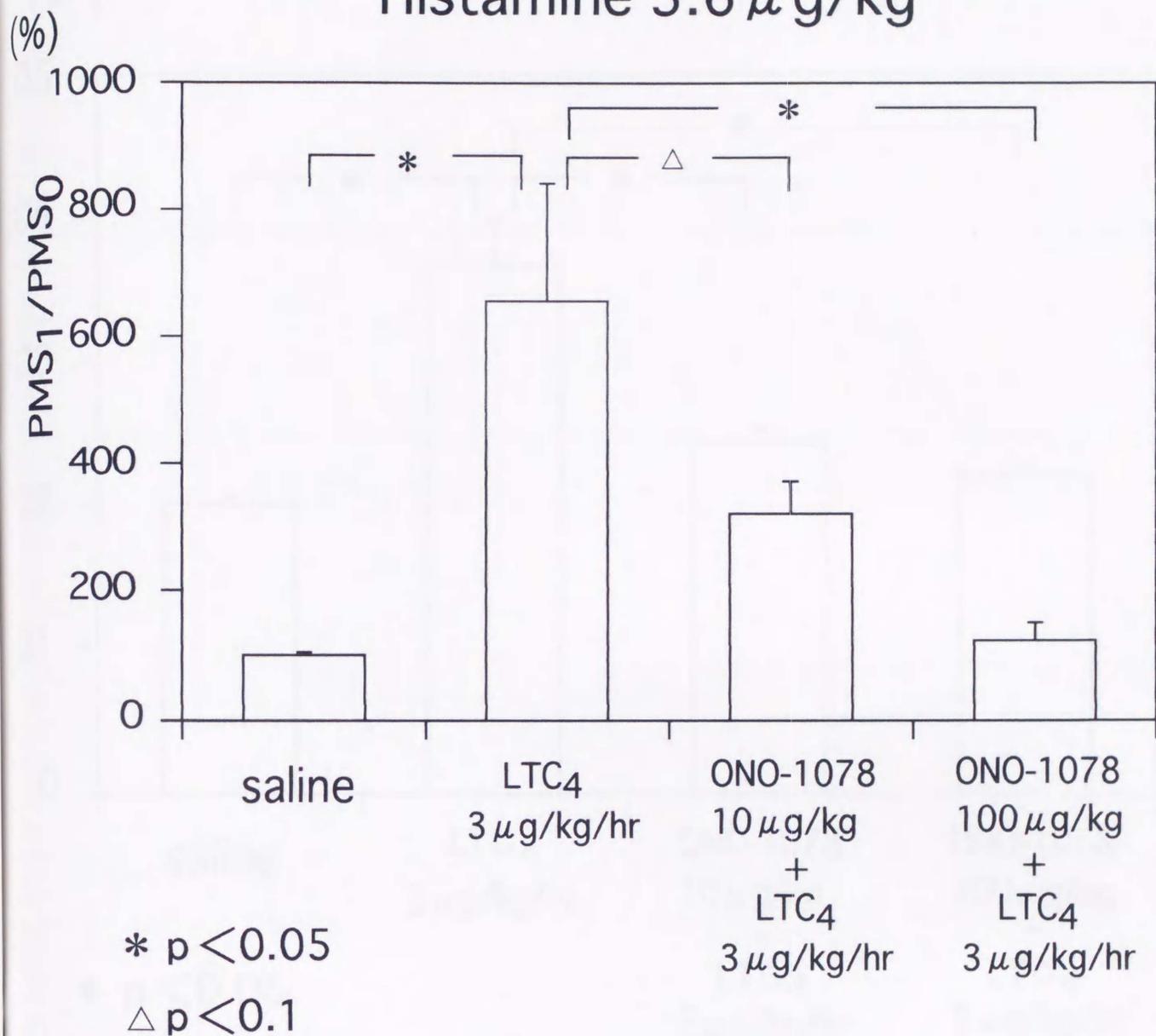


Figure 21. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTC₄

PW₁

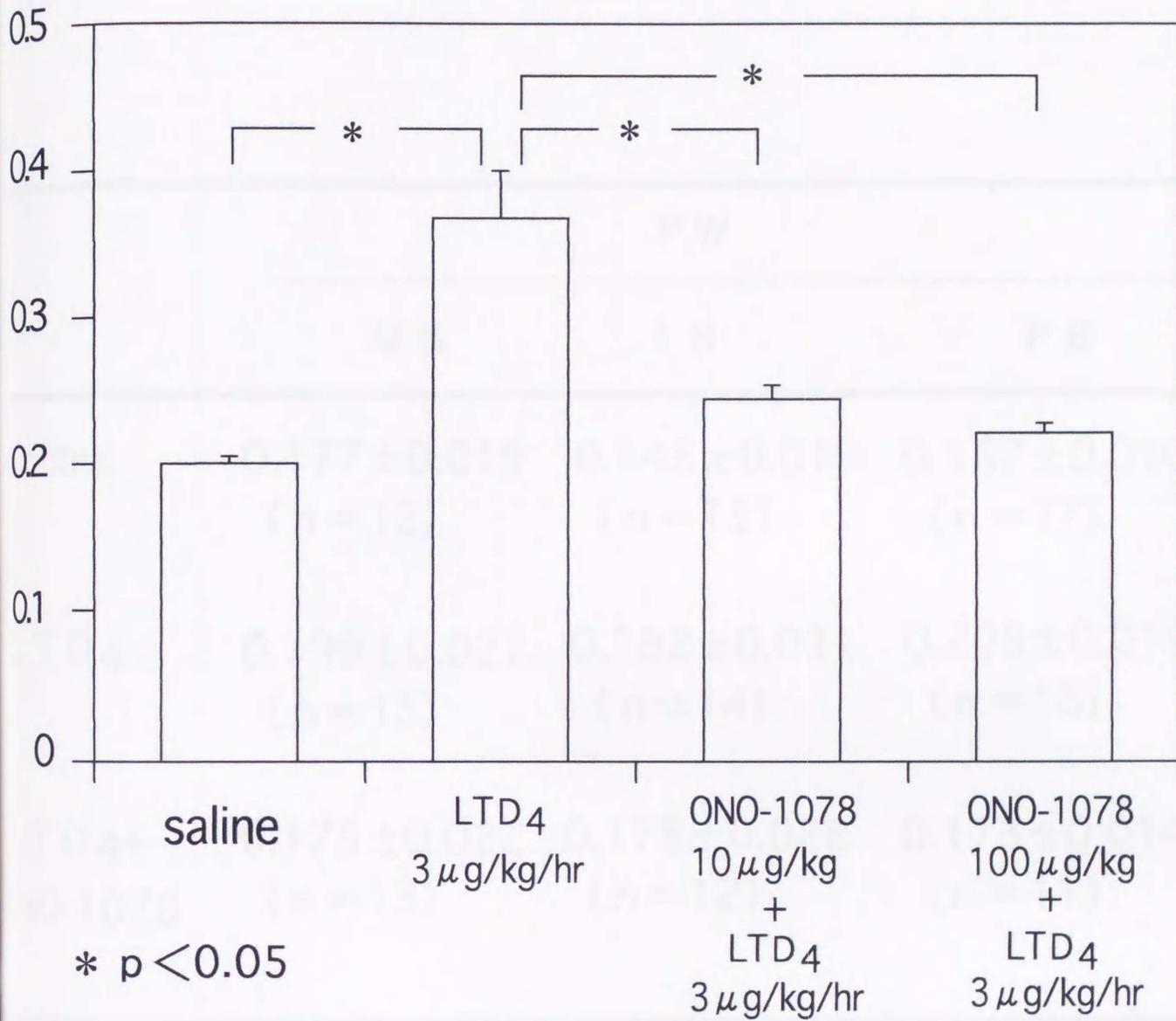


Figure 22. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PW₁ induced by LTD₄

Table 7. Relative thickness of the airway wall (PW) in main bronchi(MB), intermediate bronchi(IB) and peripheral bronchi(PB) after intravenous administration of LTD₄

	P W		
	M B	I B	P B
Control	0.177±0.019 (n=12)	0.145±0.019 (n=13)	0.167±0.010 (n=17)
LTD ₄	0.199±0.027 (n=15)	0.182±0.031 (n=14)	0.209±0.019 (n=18)
LTD ₄ + ONO-1078	0.175±0.022 (n=13)	0.178±0.028 (n=12)	0.173±0.014* (n=11)

*Statistically significant difference from the LTD₄ at $p < 0.05$

Histamine 1.8 μ g/kg

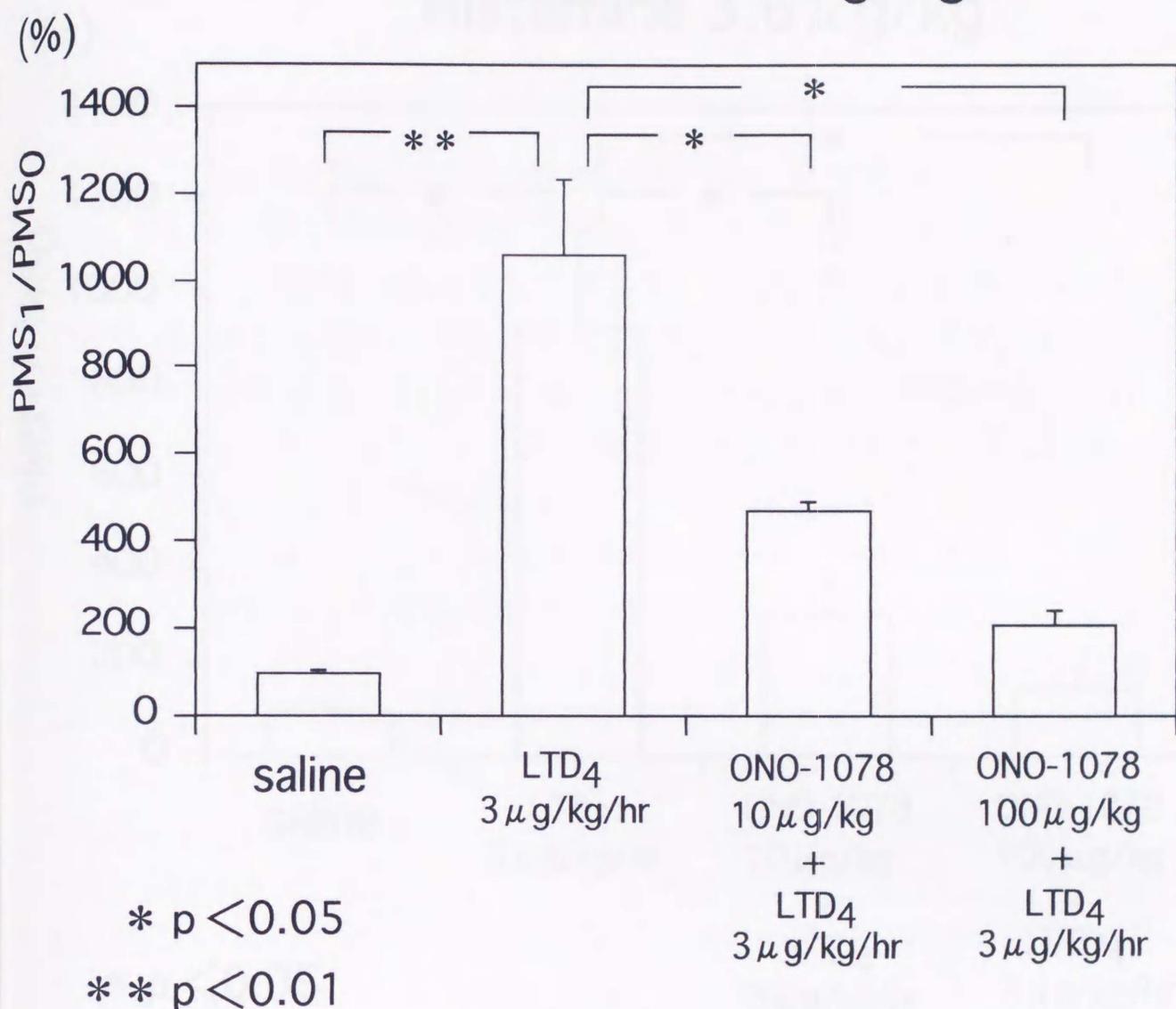


Figure 23. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTD₄

Histamine 3.6 μ g/kg

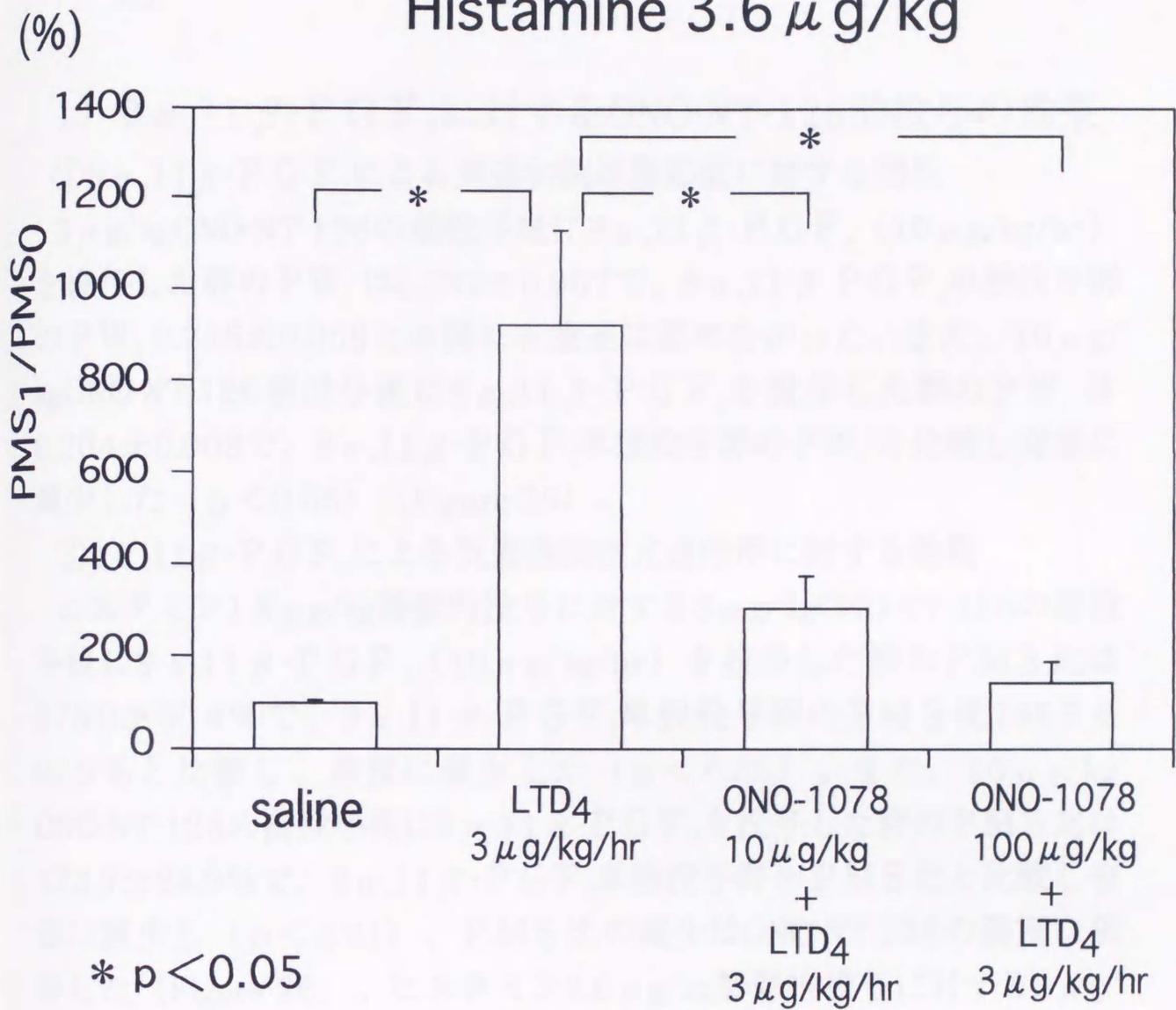


Figure 24. Effect of intravenous administration of ONO-1078 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTD₄

3 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂に対するTXA₂受容体拮抗薬の効果 果

1) $9\alpha,11\beta$ -PGF₂に対するONO-NT-126前投与の効果

① $9\alpha,11\beta$ -PGF₂による気道粘膜浮腫形成に対する効果

3 μ g/kgONO-NT-126の前投与後に $9\alpha,11\beta$ -PGF₂ (10 μ g/kg/hr)を投与した群のPW₁は 0.232 ± 0.007 で、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂単独投与群のPW₁ 0.246 ± 0.009 との間に有意差は認めなかった。また、10 μ g/kgONO-NT-126前投与後に $9\alpha,11\beta$ -PGF₂を投与した群のPW₁は 0.204 ± 0.008 で、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂単独投与群のPW₁と比較し有意に減少した ($p < 0.05$) (Figure 25)。

② $9\alpha,11\beta$ -PGF₂による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μ g/kg静脈内投与に対する3 μ g/kgONO-NT-126の前投与後に $9\alpha,11\beta$ -PGF₂ (10 μ g/kg/hr)を投与した群のPMS比は $375.0\pm 50.4\%$ で、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比 $765.5\pm 92.9\%$ と比較し、有意に減少した ($p < 0.05$)。また、10 μ g/kgONO-NT-126の前投与後に $9\alpha,11\beta$ -PGF₂を投与した群のPMS比は $173.9\pm 24.9\%$ で、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し ($p < 0.01$)、PMS比の減少はONO-NT-126の濃度に依存した (Figure 26)。ヒスタミン3.6 μ g/kg静脈内投与に対する3 μ g/kgONO-NT-126の前投与後に $9\alpha,11\beta$ -PGF₂を投与した群のPMS比は $142.9\pm 11.3\%$ で、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比 $449.8\pm 95.2\%$ と比較し有意に減少した ($p < 0.05$)。また、10 μ g/kgONO-NT-126の前投与後に $9\alpha,11\beta$ -PGF₂を投与した群のPMS比は $115.2\pm 9.3\%$ で、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比と比較し有意に減少した ($p < 0.05$) (Figure 27)。

以上よりONO-NT-126前投与はモルモット気道における $9\alpha,11\beta$ -PGF₂による気道粘膜浮腫形成を有意に抑制し、また $9\alpha,11\beta$ -PGF₂による気道過敏性亢進作用を有意に抑制した。

PW₁

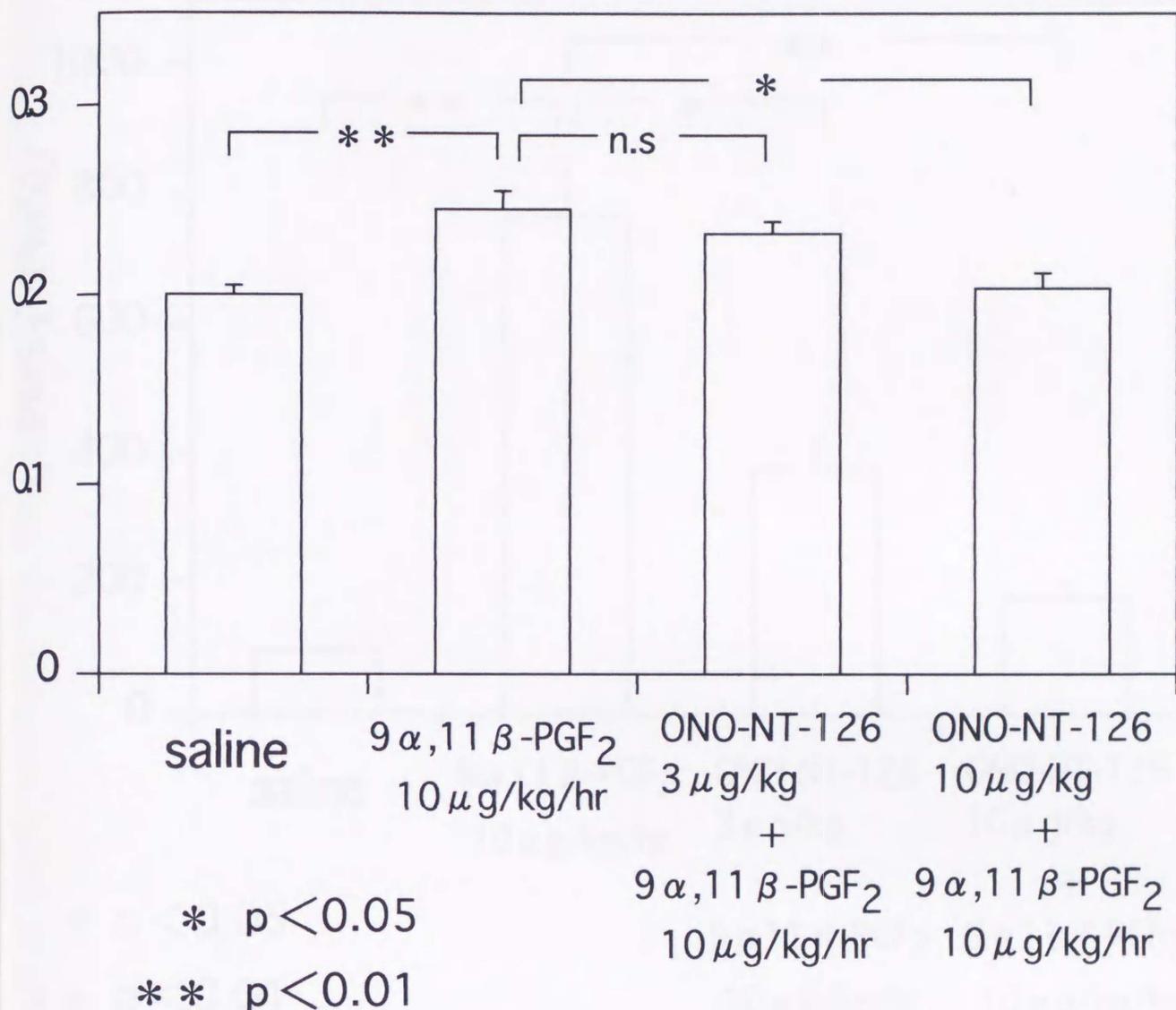


Figure 25. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PW₁ induced by 9 α ,11 β -PGF₂

Histamine 1.8 μ g/kg

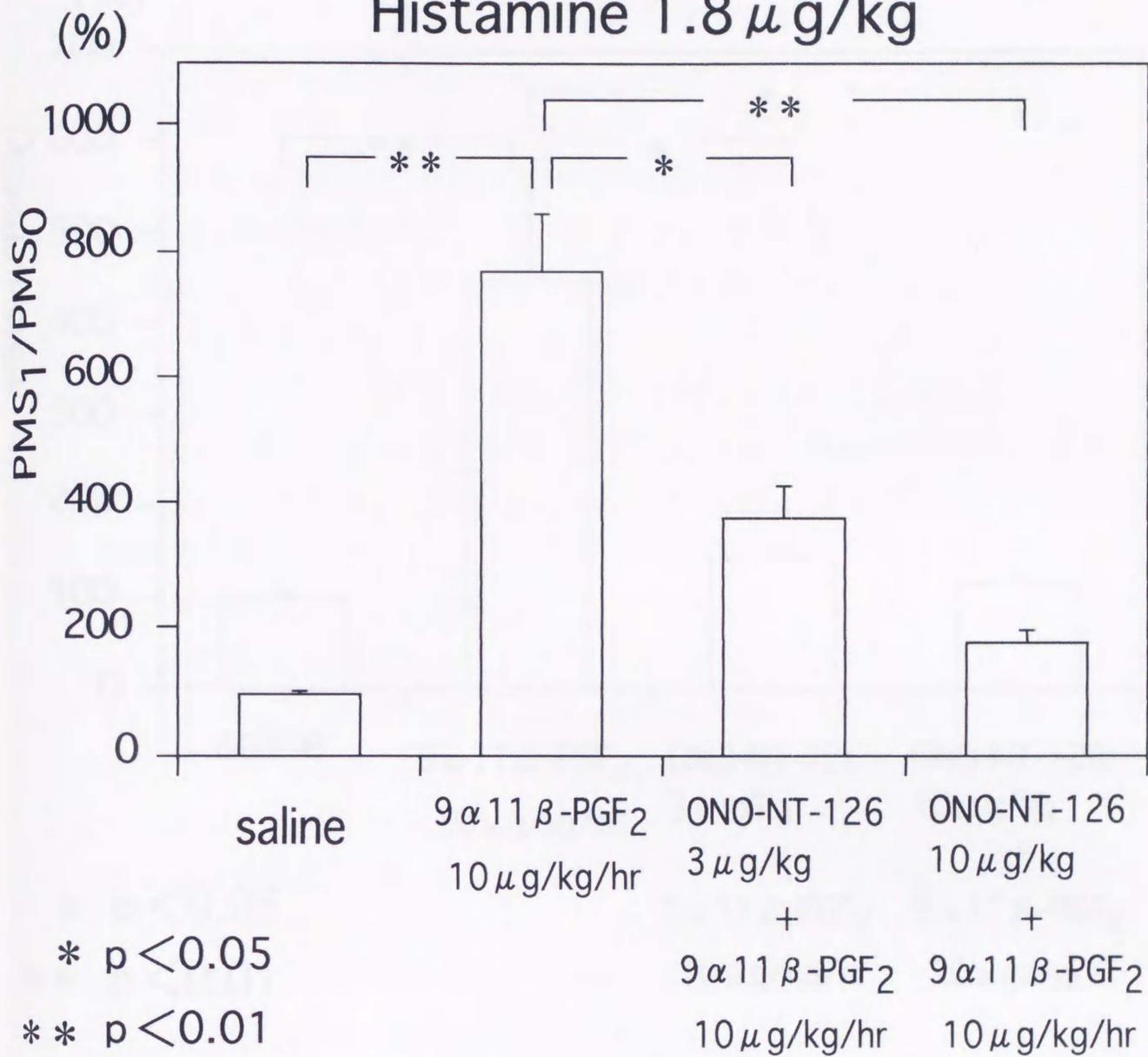


Figure 26. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 9 α ,11 β -PGF₂

Histamine 3.6 μ g/kg

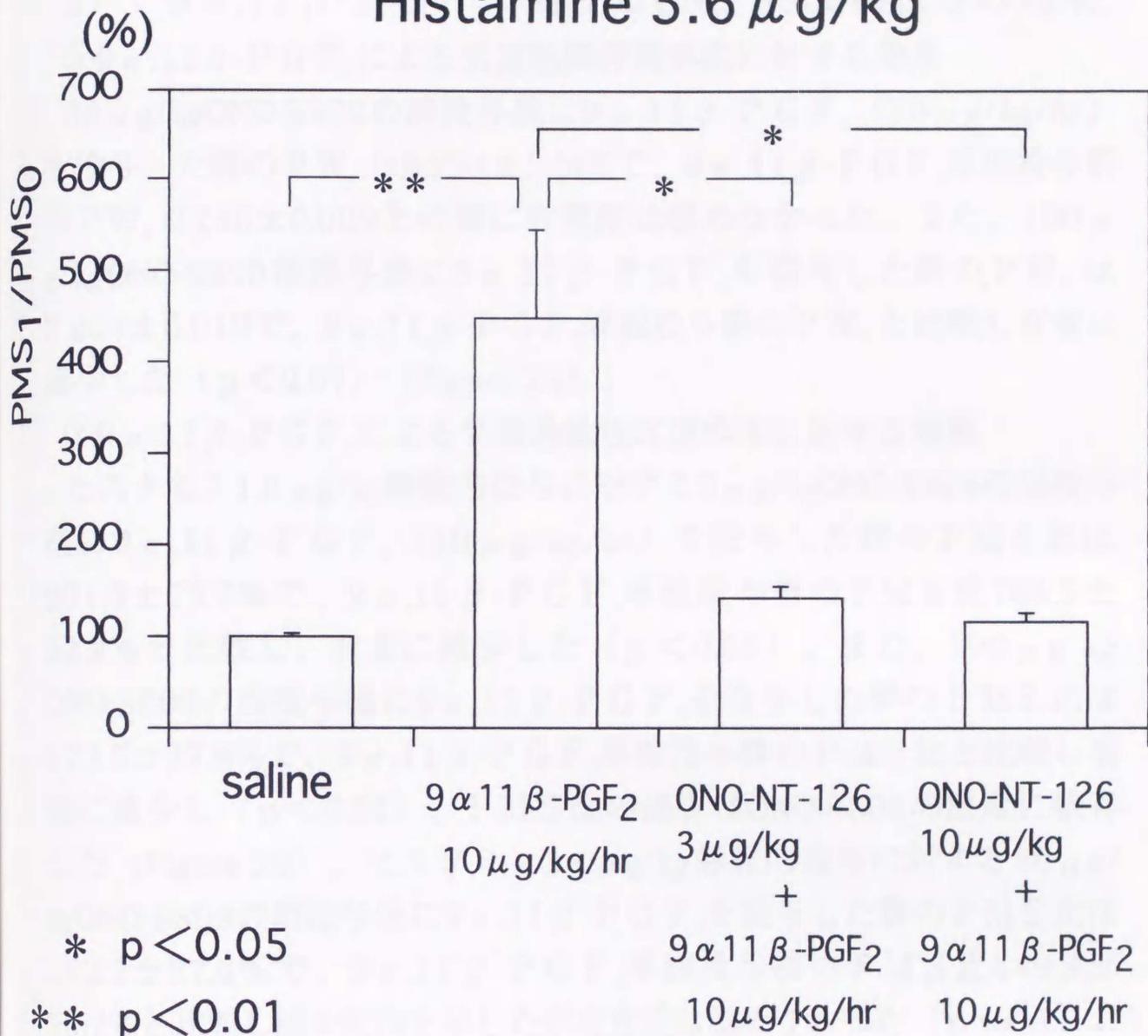


Figure 27. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 9 α ,11 β -PGF₂

2) $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂に対するONO-8809前投与の効果

① $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂による気道粘膜浮腫形成に対する効果

30 μ g/kgONO-8809の前投与後に $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂ (10 μ g/kg/hr)を投与した群のPW₁は 0.234 ± 0.005 で、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂単独投与群のPW₁ 0.246 ± 0.009 との間に有意差は認めなかった。また、100 μ g/kgONO-8809前投与後に $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂を投与した群のPW₁は 0.204 ± 0.010 で、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂単独投与群のPW₁と比較し有意に減少した ($p < 0.01$) (Figure 28)。

② $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μ g/kg静脈内投与に対する3 μ g/kgONO-8809の前投与後に $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂ (10 μ g/kg/hr)を投与した群のPMS比は $201.8 \pm 73.7\%$ で、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比 $765.5 \pm 92.9\%$ と比較し、有意に減少した ($p < 0.05$)。また、100 μ g/kgONO-8809の前投与後に $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂を投与した群のPMS比は $173.5 \pm 37.8\%$ で、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し ($p < 0.01$)、PMS比の減少はONO-8809の濃度に依存した (Figure 29)。ヒスタミン3.6 μ g/kg静脈内投与に対する30 μ g/kgONO-8809の前投与後に $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂を投与した群のPMS比は $162.2 \pm 37.6\%$ で、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂単独投与群のPMS比 $449.8 \pm 95.2\%$ と比較し減少傾向を示したが有意差は認めなかった ($p < 0.1$)。また、100 μ g/kgONO-8809の前投与後に $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂を投与した群のPMS比は $115.0 \pm 5.8\%$ で、 $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂単独投与群の

PMS比と比較し有意に減少し、($p < 0.05$) PMS比の減少はONO-8809の濃度に依存した (Figure 30)。

以上よりONO-8809前投与はモルモット気道における $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂による気道粘膜浮腫形成を有意に抑制し、また $9\alpha, 11\beta$ -PGF₂による気道過敏性亢進作用を濃度依存性に有意に抑制した。

Histamine 1.5 μg/kg

PW₁

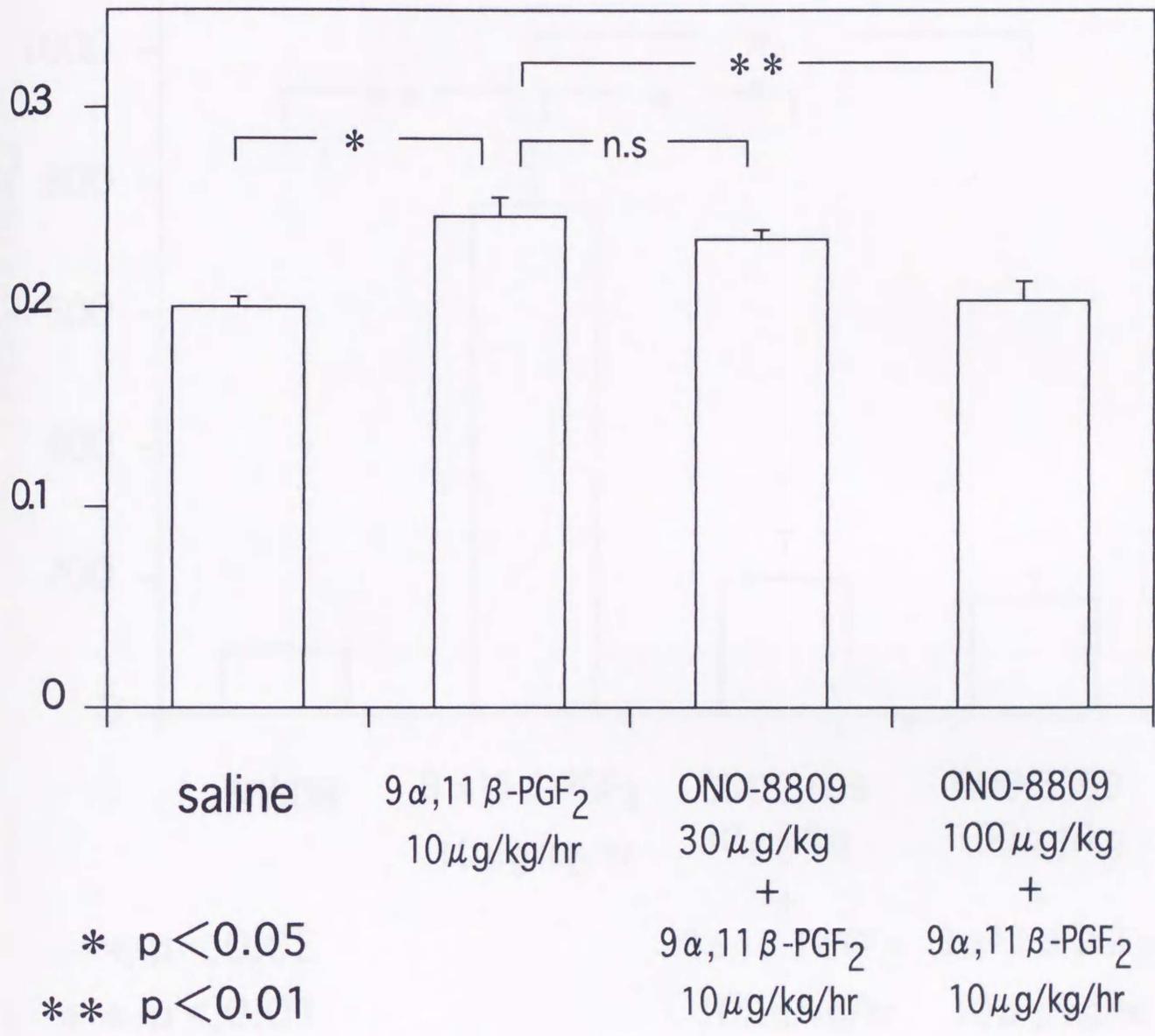


Figure 28. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PW₁ induced by 9α,11β-PGF₂

Histamine 1.8 μ g/kg

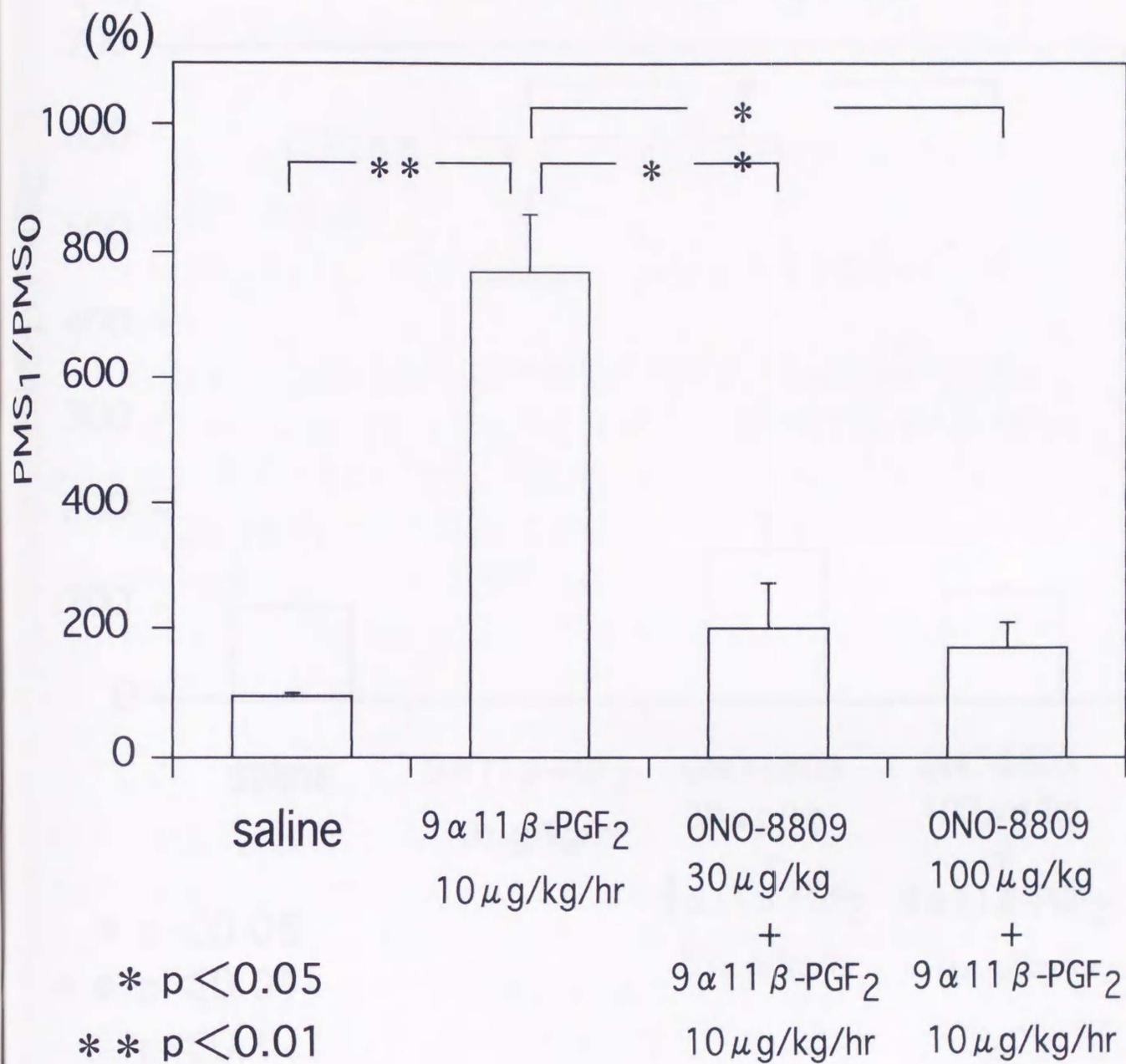


Figure 29. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 9 α ,11 β -PGF₂

Histamine 3.6 μ g/kg

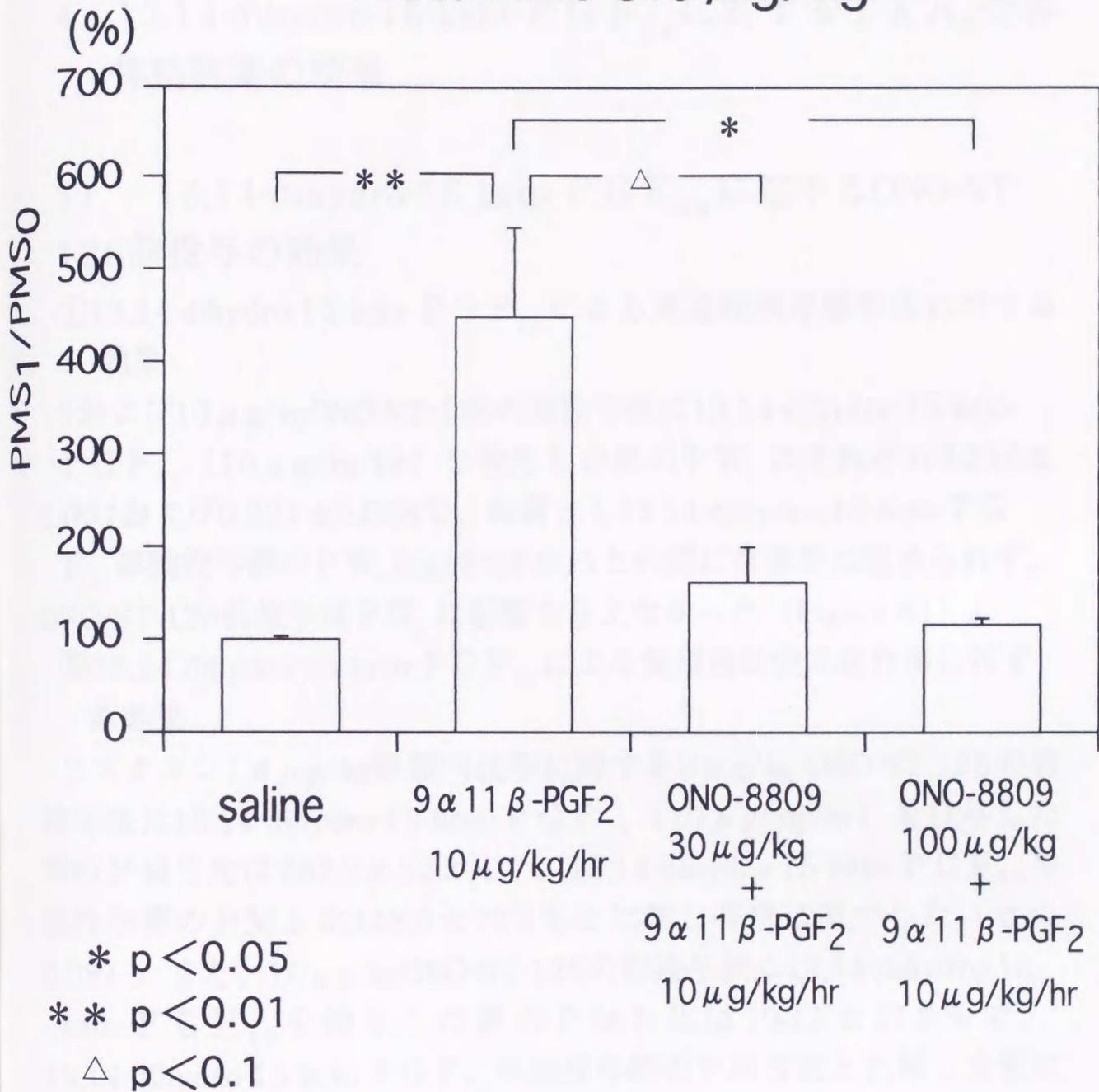


Figure 30. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 9 α ,11 β -PGF₂

4 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}に対するTXA₂受容体拮抗薬の効果

1) 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}に対するONO-NT-126前投与の効果

①13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}による気道粘膜浮腫形成に対する効果

3および10 μg/kgONO-NT-126の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} (10 μg/kg/hr) を投与した群のPW₁はそれぞれ0.216±0.007および0.221±0.008で、両群とも13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPW₁0.218±0.005との間に有意差は認められず、ONO-NT-126前投与はPW₁に影響を与えなかった (Figure 31)。

②13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μg/kg静脈内投与に対する3 μg/kgONO-NT-126の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} (10 μg/kg/hr) を投与した群のPMS比は262.2±32.3%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比448.0±72.8%と比較し有意に減少した (p<0.05)。また、10 μg/kgONO-NT-126の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}を投与した群のPMS比は196.1±27.9%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比と比較し有意に減少した (p<0.05) (Figure 32)。ヒスタミン3.6 μg/kg静脈内投与に対する3 μg/kgONO-NT-126の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}を投与した群のPMS比は138.5±9.8%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比237.7±30.4%と比較し有意に減少した (p<0.05)。また、10 μg/kgONO-NT-126の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}を投与した群のPMS比は117.4±15.3%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比と比較し有意に減少した (p<0.05) (Figure 33)。

PW₁

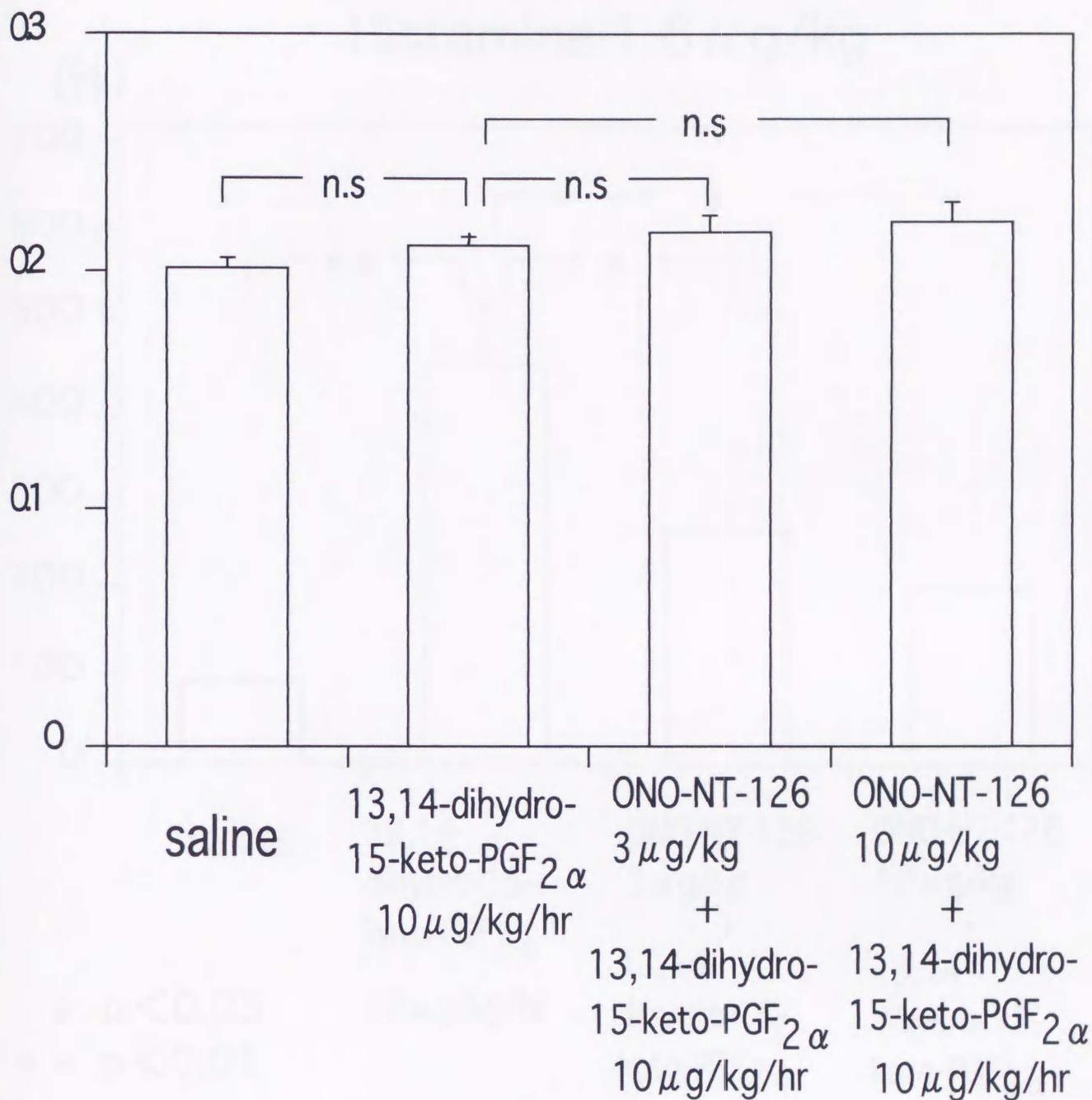


Figure 31. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PW₁ induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}

Histamine 1.8 μ g/kg

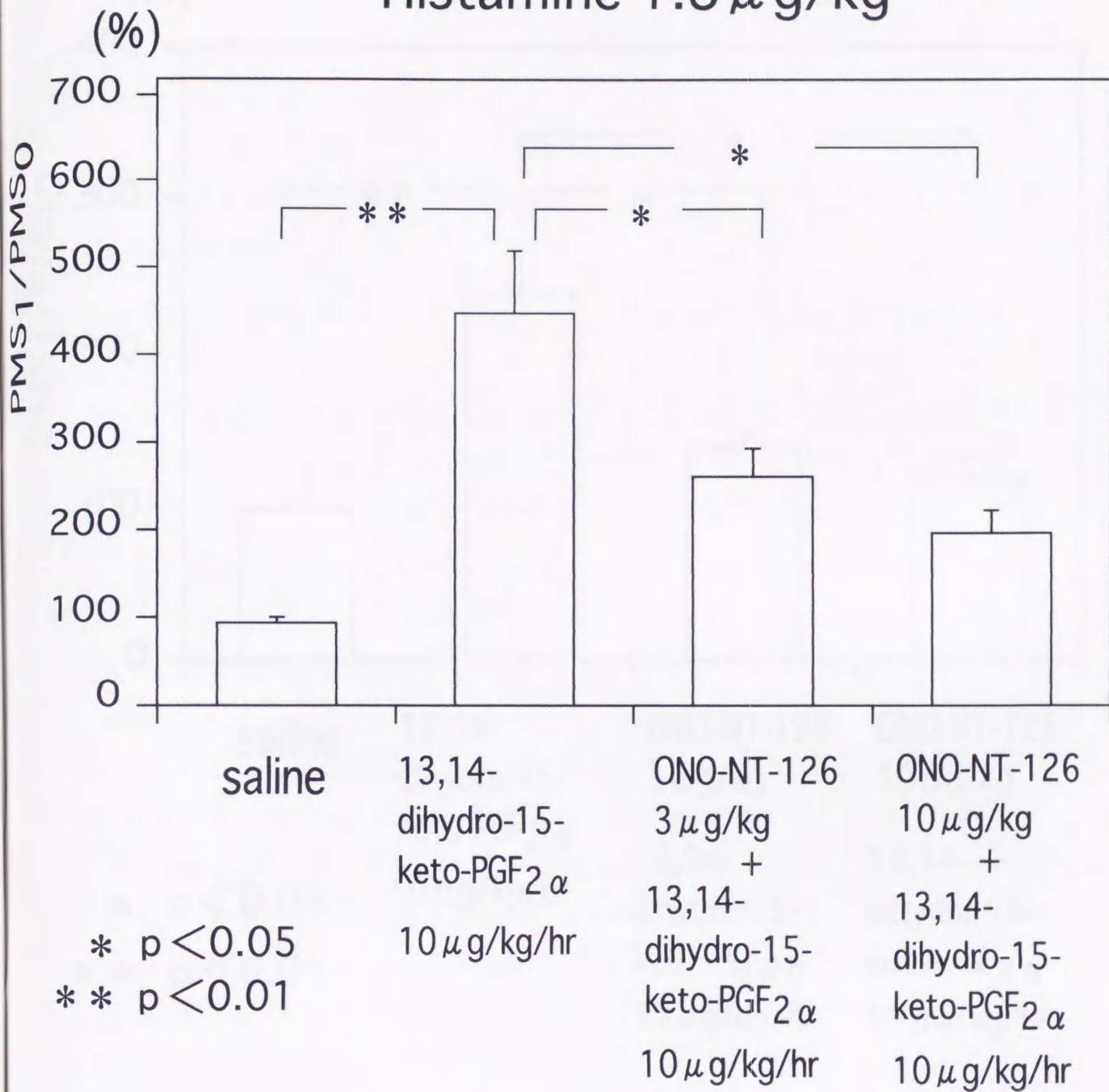


Figure 32. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α

Histamine 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$

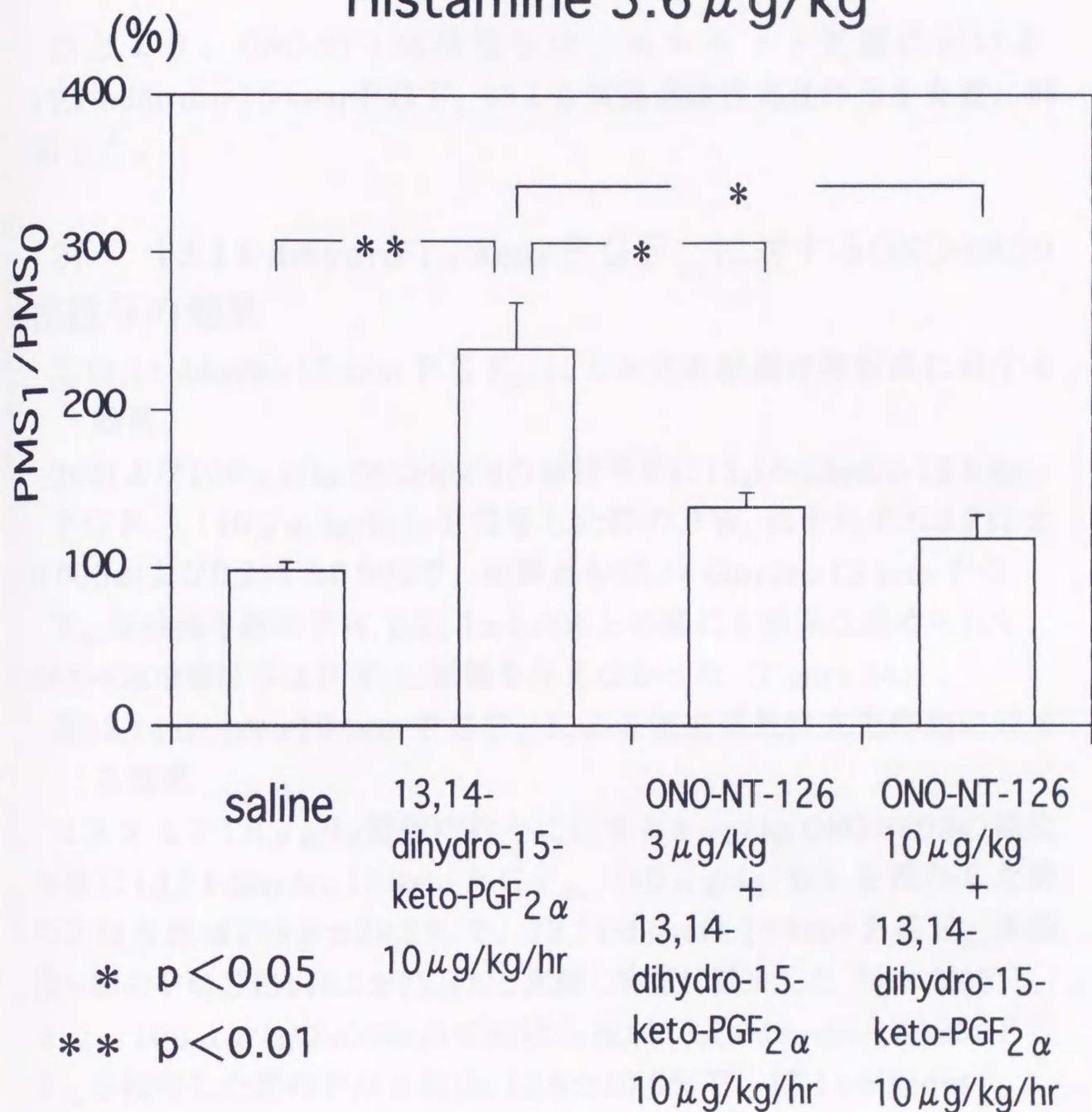


Figure 33. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α

以上より、ONO-NT-126前投与は、モルモット気道における13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}による気道過敏性亢進作用を有意に抑制した。

2) 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}に対するONO-8809前投与の効果

①13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}による気道粘膜浮腫形成に対する効果

30および100 μg/kg ONO-8809の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} (10 μg/kg/hr) を投与した群のPW₁はそれぞれ0.213±0.005および0.211±0.005で、両群とも13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPW₁ 0.218±0.005との間に有意差は認められず、ONO-8809前投与はPW₁に影響を与えなかった (Figure 34)。

②13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μg/kg静脈内投与に対する3 μg/kg ONO-8809の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} (10 μg/kg/hr) を投与した群のPMS比は259.8±39.2%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比448.0±72.8%と比較し有意に減少した (p<0.05)。

また、100 μg/kg ONO-8809の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} を投与した群のPMS比は132.6±10.8%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比と比較し有意に減少し (p<0.05)、PMS比の減少はONO-8809の濃度に依存した (Figure 35)。

ヒスタミン3.6 μg/kg静脈内投与に対する30 μg/kg ONO-8809の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} を投与した群のPMS比は180.4±45.1%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群の

PMS比237.7±30.4%との間に有意差は認めなかった。また、100 μg/kg ONO-8809の前投与後に13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α} を投与した群のPMS比は111.1±4.0%で、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}単独投与群のPMS比と比較し有意に減少した (p<0.05)

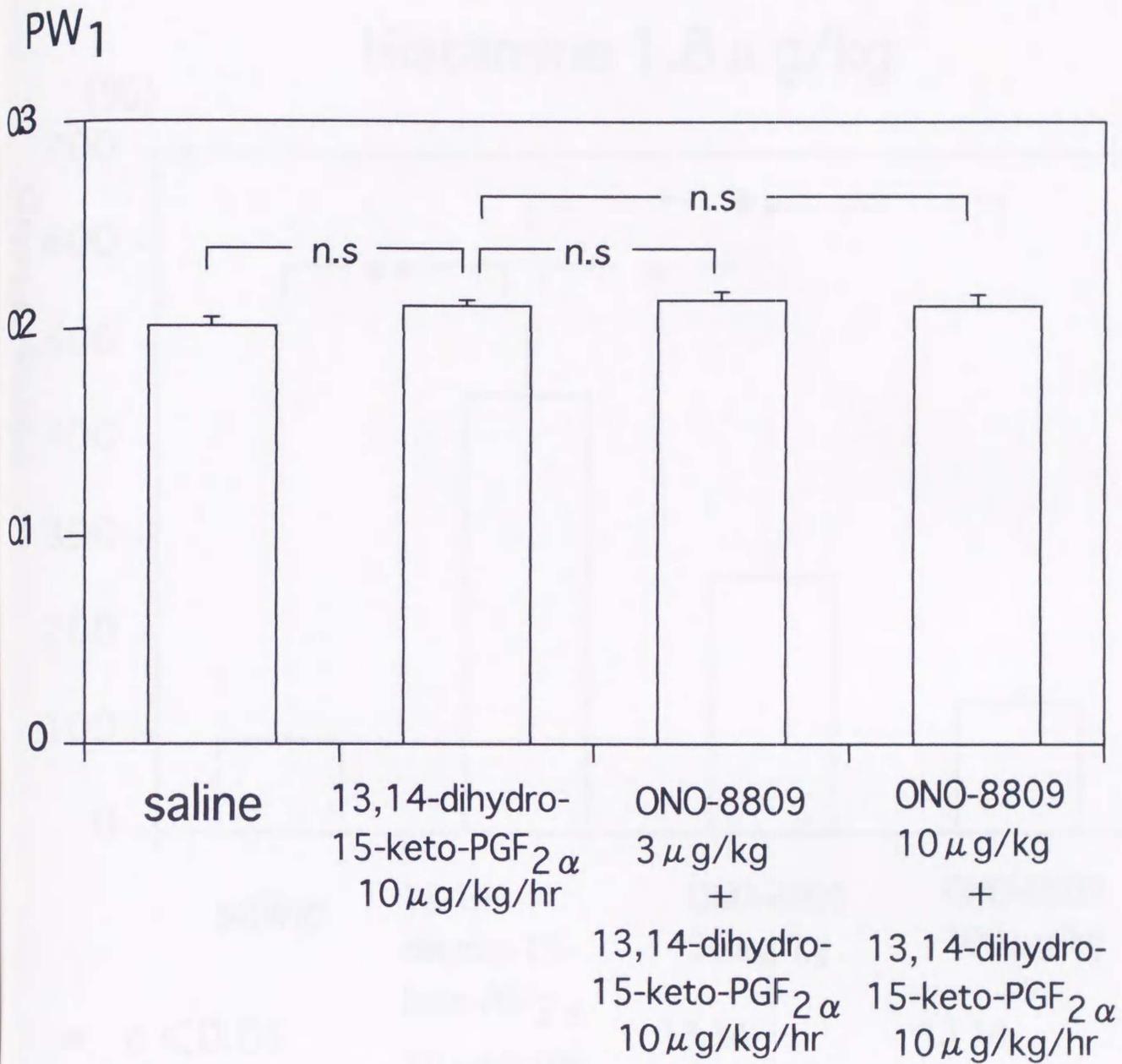


Figure 34. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PW₁ induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}

Histamine 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$

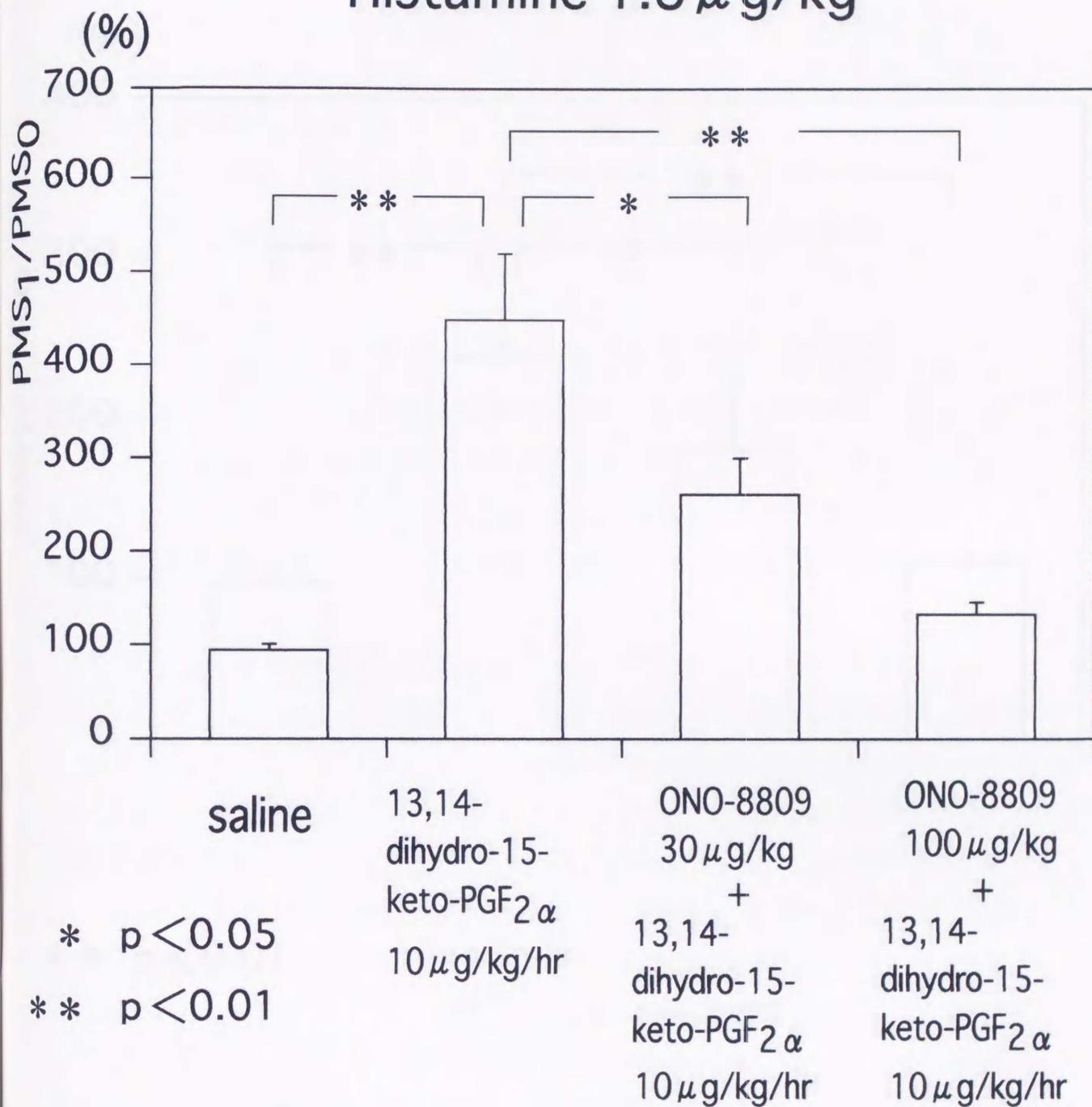


Figure 35. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of $\text{PMS}_1/\text{PMS}_0$ induced by 13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_2\alpha$

Histamine 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$

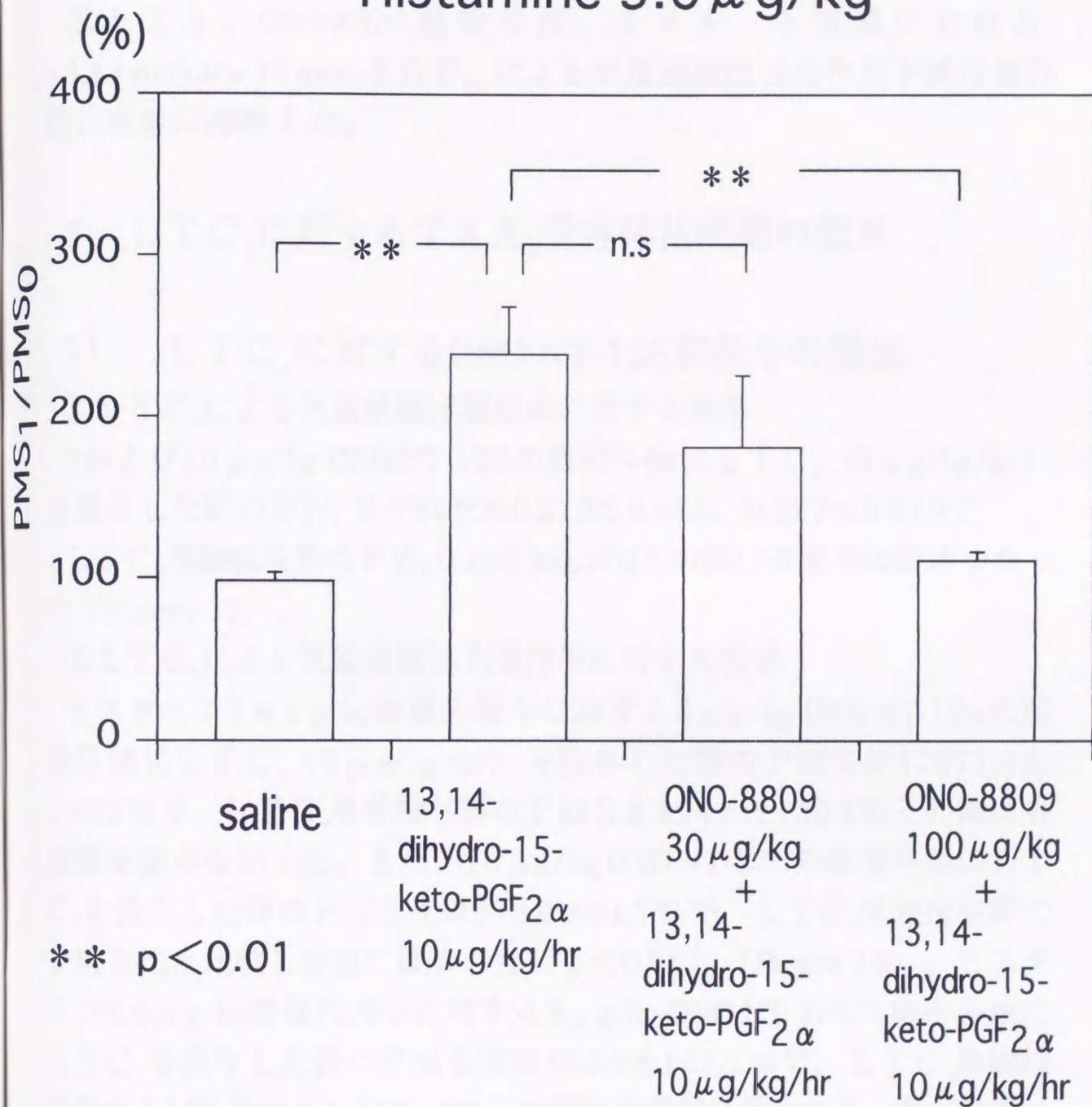


Figure 36. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by 13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}

(Figure 36)。

以上より、ONO-8809前投与は、モルモット気道における13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}による気道過敏性亢進作用を濃度依存性に有意に抑制した。

5 LTC₄に対するTXA₂受容体拮抗薬の効果

1) LTC₄に対するONO-NT-126前投与の効果

①LTC₄による気道粘膜浮腫形成に対する効果

3および10 μg/kg ONO-NT-126の前投与後にLTC₄ (3 μg/kg/hr)を投与した群のPW₁はそれぞれ0.318±0.025、0.227±0.019で、LTC₄単独投与群のPW₁ 0.286±0.020との間に有意差は認めなかった (Figure 37)。

②LTC₄による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μg/kg静脈内投与に対する3 μg/kg ONO-NT-126の前投与後にLTC₄ (3 μg/kg/hr)を投与した群のPMS比は871.8±150.3%で、LTC₄単独投与群のPMS比894.6±130.4%との間に有意差を認めなかった。また、10 μg/kg ONO-NT-126の前投与後にLTC₄を投与した群のPMS比は378.0±81.7%で、LTC₄単独投与群のPMS比と比較し有意に減少した (p<0.05) (Figure 38)。ヒスタミン3.6 μg/kg静脈内投与に対する3 μg/kg ONO-NT-126の前投与後にLTC₄を投与した群のPMS比は563.6±161.1%で、LTC₄単独投与群のPMS比655.6±184.8%との間に有意差は認めなかった。また、10 μg/kg ONO-NT-126の前投与後にLTC₄を投与した群のPMS比は182.3±43.2%で、LTC₄単独投与群のPMS比と比較し有意に減少した (p<0.01) (Figure 39)。

以上よりONO-NT-126前投与はモルモット気道におけるLTC₄による気道粘膜浮腫形成には影響を与えず、LTC₄による気道過敏性亢進作用を有意に抑制した。

Histamine 1.5 μg/kg

PW₁

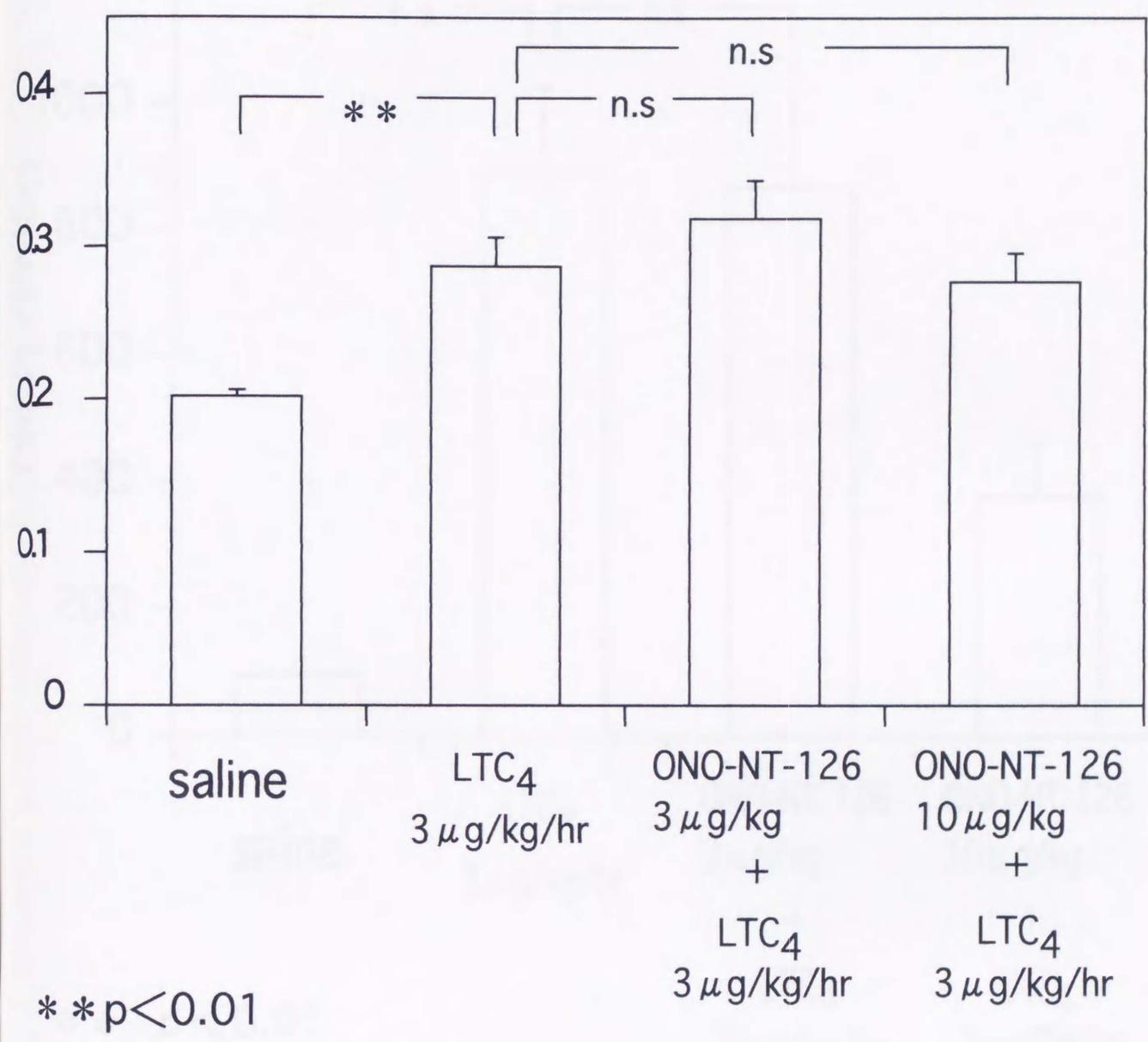


Figure 37. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PW₁ induced by LTC₄

Histamine 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$

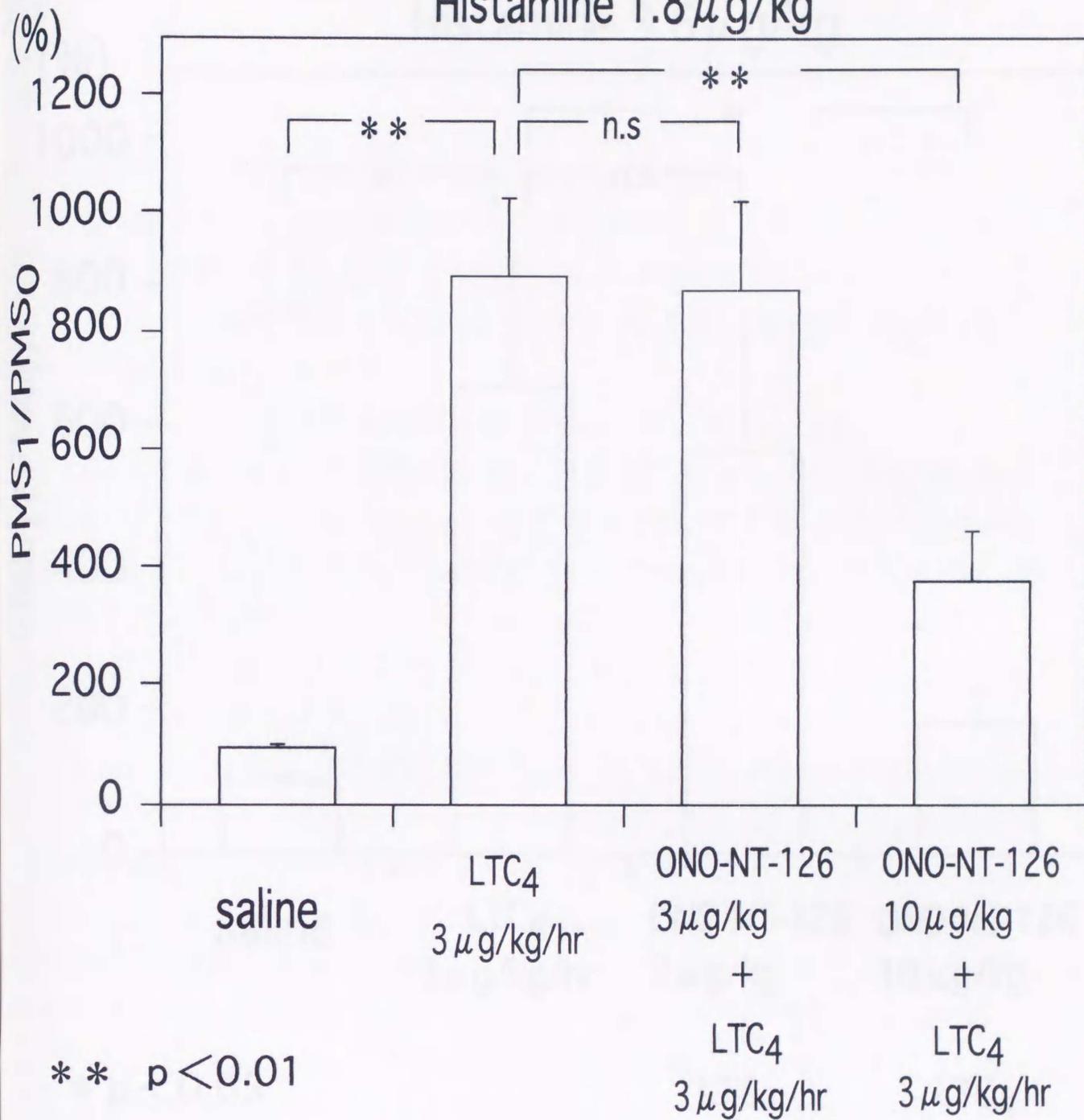


Figure 38. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTC₄

Histamine 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$

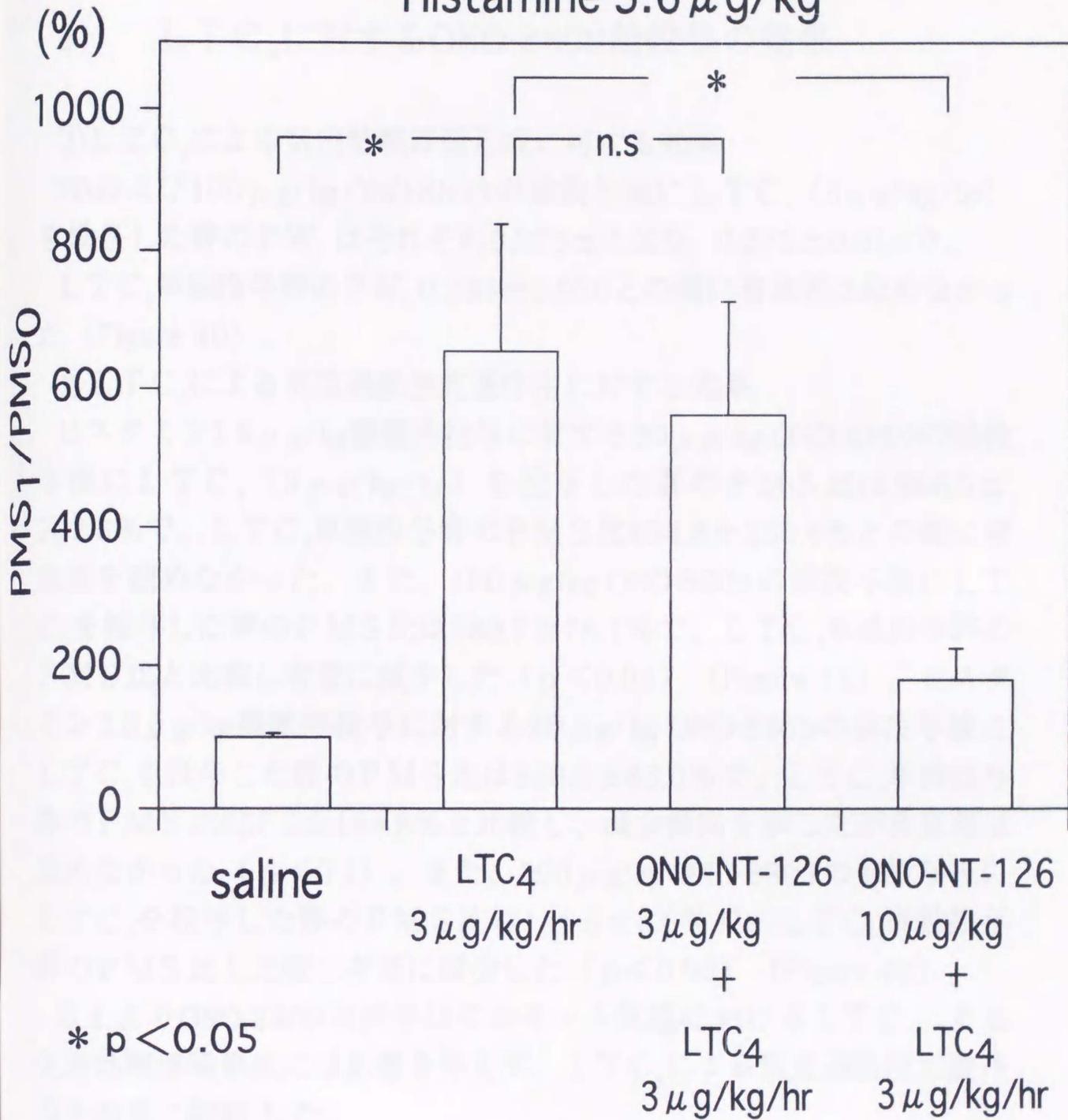


Figure 39. Effect of intravenous administration of ONO-NT-126 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTC₄

2) L T C₄に対するONO-8809前投与の効果

① L T C₄による気道粘膜浮腫形成に対する効果

30および100 μ g/kg ONO-8809の前投与後にL T C₄ (3 μ g/kg/hr)を投与した群のP W₁はそれぞれ0.275 \pm 0.020、0.275 \pm 0.016で、L T C₄単独投与群のP W₁ 0.286 \pm 0.020との間に有意差は認めなかった (Figure 40)。

② L T C₄による気道過敏性亢進作用に対する効果

ヒスタミン1.8 μ g/kg静脈内投与に対する30 μ g/kg ONO-8809の前投与後にL T C₄ (3 μ g/kg/hr)を投与した群のP M S比は866.5 \pm 102.5%で、L T C₄単独投与群のP M S比894.6 \pm 130.4%との間に有意差を認めなかった。また、100 μ g/kg ONO-8809の前投与後にL T C₄を投与した群のP M S比は389.7 \pm 76.1%で、L T C₄単独投与群のP M S比と比較し有意に減少した ($p < 0.05$) (Figure 41)。ヒスタミン3.6 μ g/kg静脈内投与に対する30 μ g/kg ONO-8809の前投与後にL T C₄を投与した群のP M S比は366.0 \pm 83.0%で、L T C₄単独投与群のP M S比655.6 \pm 184.8%と比較し、減少傾向を示したが有意差は認めなかった ($p < 0.1$)。また、100 μ g/kg ONO-8809の前投与後にL T C₄を投与した群のP M S比は126.6 \pm 8.6%で、L T C₄単独投与群のP M S比と比較し有意に減少した ($p < 0.05$) (Figure 42)。

以上よりONO-8809前投与はモルモット気道におけるL T C₄による気道粘膜浮腫形成には影響を与えず、L T C₄による気道過敏性亢進作用を有意に抑制した。

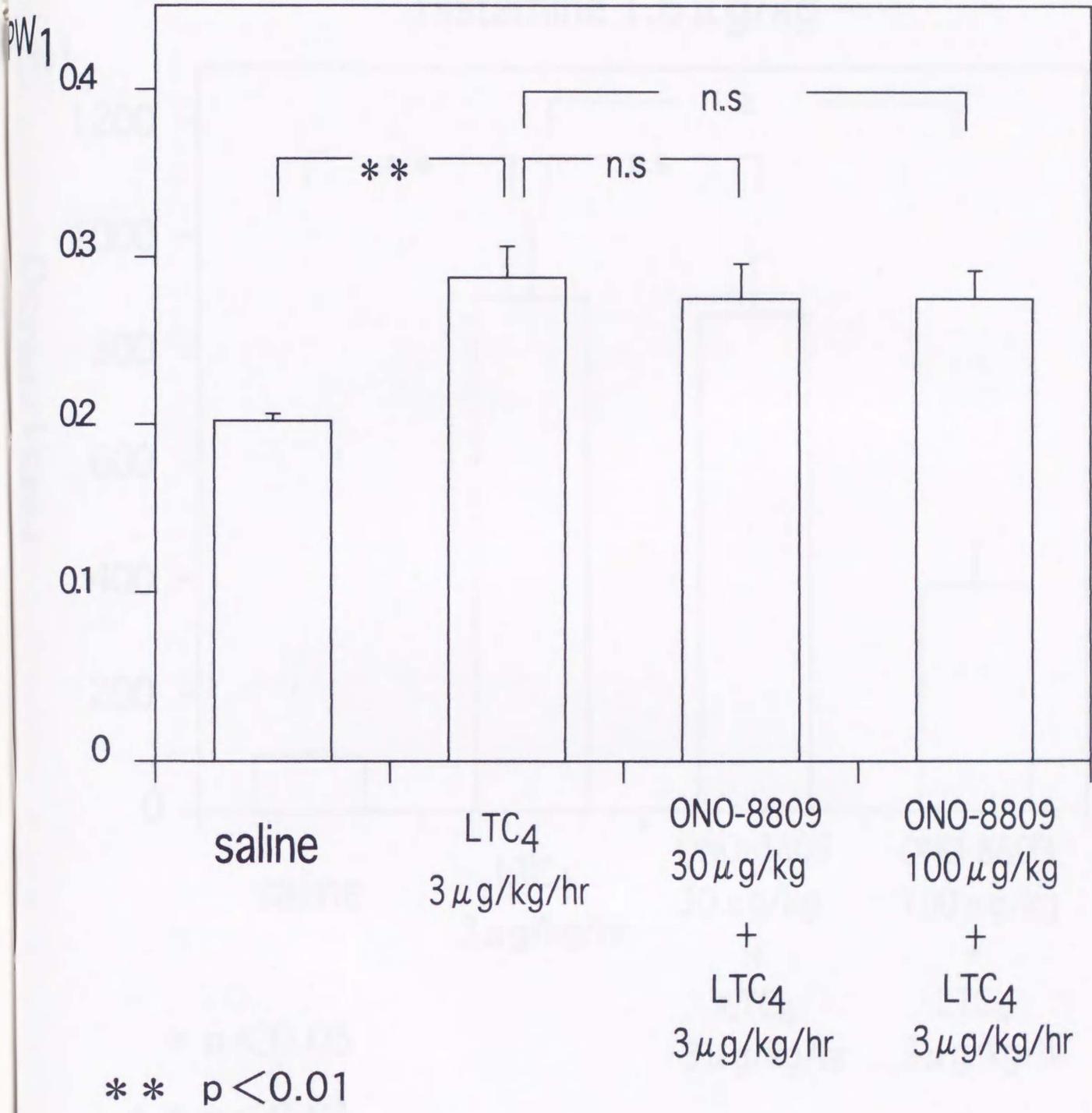


Figure 40. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PW₁ induced by LTC₄

Histamine 1.8 μ g/kg

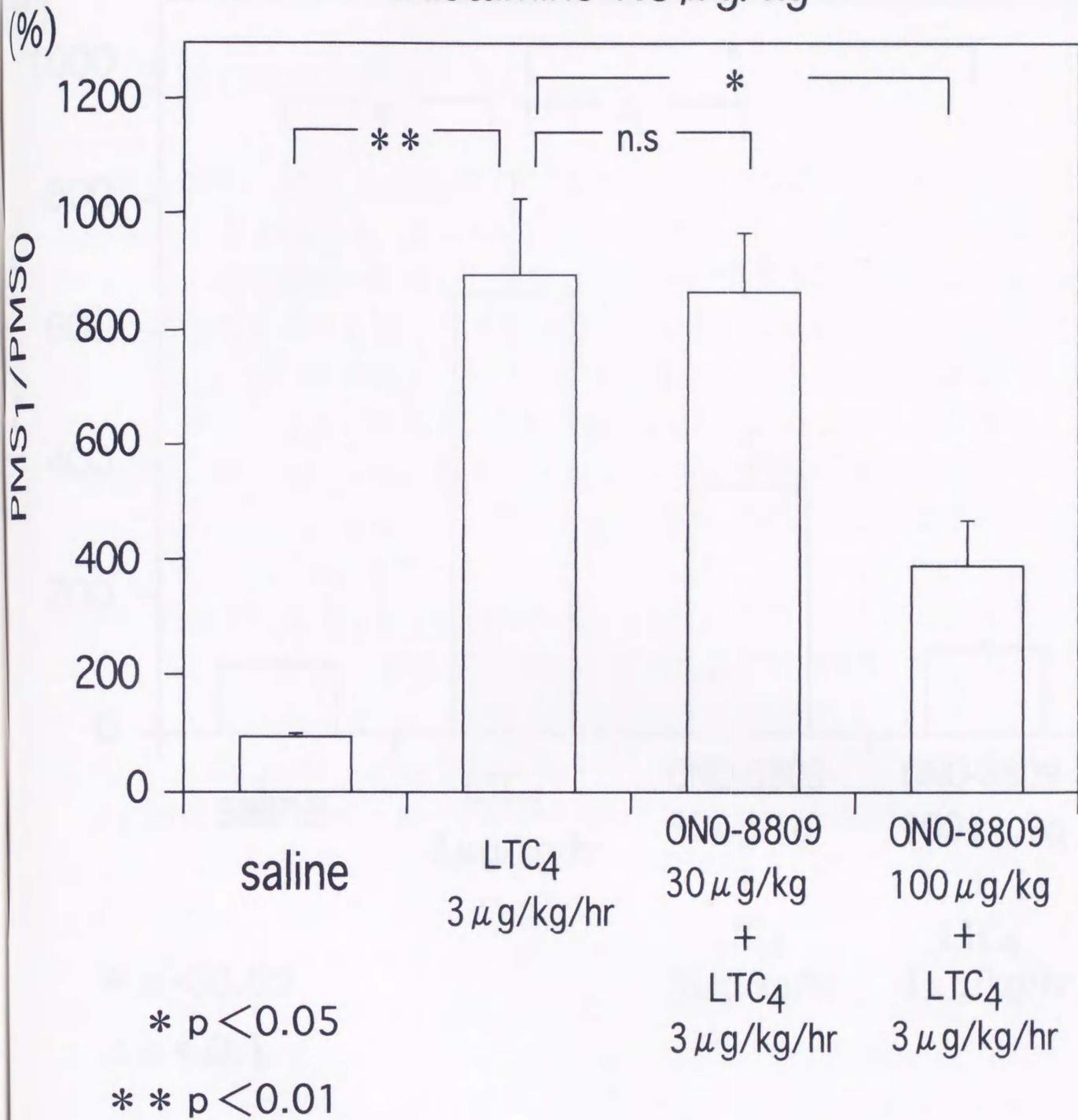


Figure 41. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTC₄

Histamine 3.6 μ g/kg

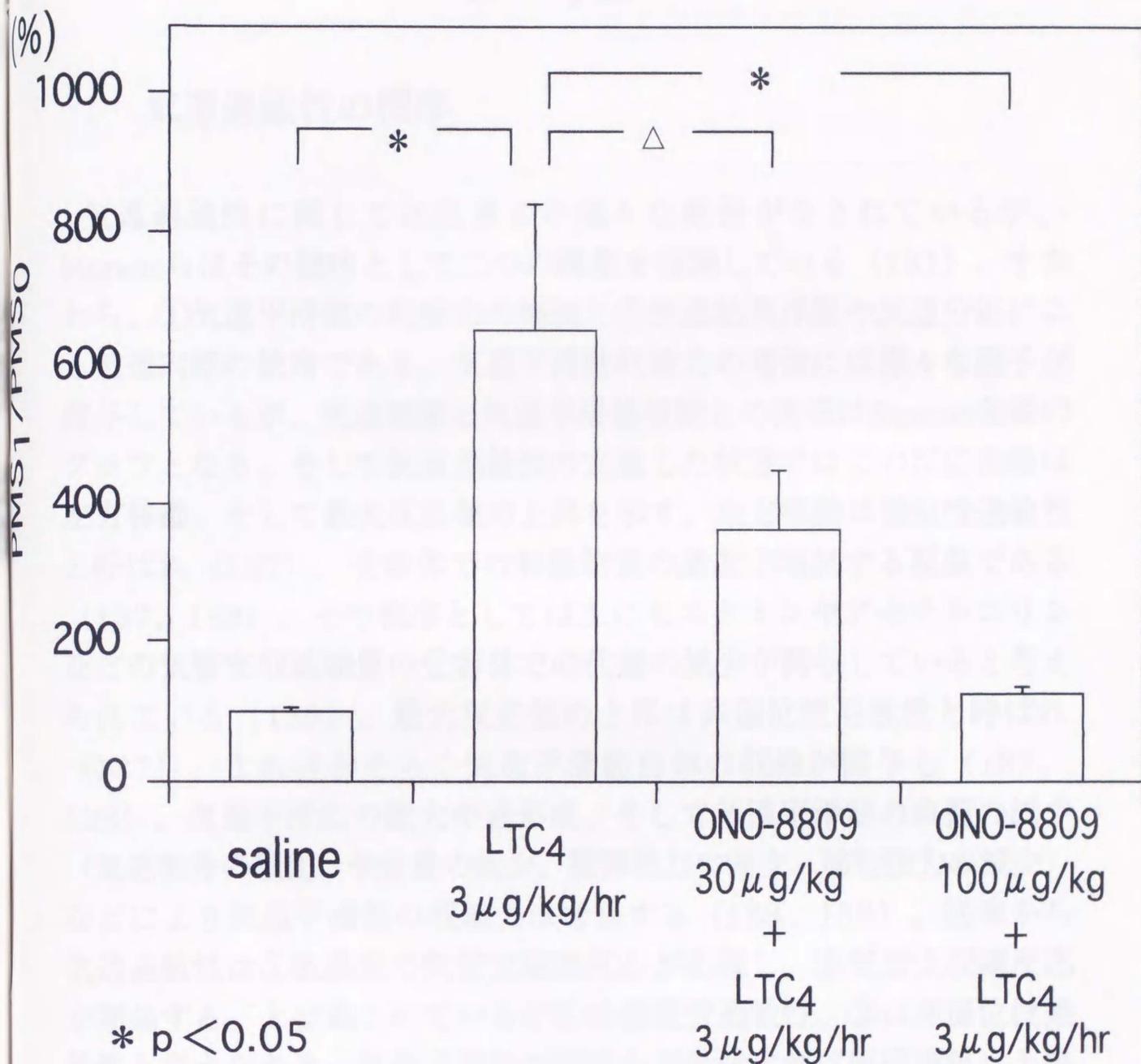


Figure 42. Effect of oral administration of ONO-8809 on the changes of PMS₁/PMS₀ induced by LTC₄

IV 考察

1 気道過敏性の機序

気道過敏性に関しては従来より様々な報告がなされているが、Morenoらはその機序として二つの現象を指摘している(131)。すなわち、①気道平滑筋の収縮力の増強と②気道粘膜浮腫や気道分泌による気道内腔の狭窄である。気道平滑筋収縮力の増強には様々な因子が関与しているが、気道刺激と気道平滑筋収縮との関係はSigmoid曲線のグラフとなる。そして気道過敏性の亢進した状態ではこの反応曲線は左方移動、そして最大反応値の上昇を示す。左方移動は偏位性過敏性と呼ばれ(137)、受容体での刺激物質の濃度が増加する現象である(137、138)。その機序としては主にヒスタミンやアセチルコリンなどの気管支収縮物質の受容体での代謝の減少が関与していると考えられている(139)。最大反応値の上昇は非偏位性過敏性と呼ばれ(137)、これはおそらく気道平滑筋自体の収縮が関与し(137、138)、気道平滑筋の肥大や過形成、そして気道平滑筋の負荷の減少(気道軟骨の軟化、軟骨量の減少、肺弾性力の減少、肺胞張力の減少)などにより気道平滑筋の収縮力は増強する(138、139)。従来から気道過敏性は①低濃度で気管支収縮反応が出現し、②気管支収縮反応が増強する、と定義されているが①は偏位性過敏性、②は非偏位性過敏性と考えられる。気道平滑筋の収縮力が増強すれば気道抵抗は上昇するが、気道を単一の円筒と仮定することにより気道抵抗の増加は以下の如く数式化できる。すなわち、気道平滑筋の短縮率(PMS)に対する単一気道での気道抵抗の増加(ΔR_{aw})、気道周囲における気道平滑筋の割合(PMC)、そして気道壁の肥厚(PW)はPoiseuilleの法則より計算が可能である。

気道は始まりとして弛緩した状態にあり、気道平滑筋の最外側で作られた外円周の半径、および気道平滑筋と連結している軟骨板の内側

面で形成している。弛緩時の外周の半径を R_{er} 、粘膜の内面で作られる内側の円周の半径を R_{ir} とすると、気道収縮時の外側の円周 (C_{ec}) は

$$C_{ec} = 2\pi R_{er} - 2\pi R_{er} \times PMS \times PMC \text{ となる。}$$

PMC は弛緩時の気道外周の中の気道平滑筋が占める割合で、 PMS は気道平滑筋の収縮 (短縮) の割合である。もし $R_{er} = 1$ であれば収縮時の外周の半径 (R_{ec}) は

$R_{ec} = 1 - PMC \times PMS$ となる。気道粘膜領域の面積は $\pi R_{er}^2 \times PW$ と表され、 PW は外側円全体に占める気道壁の割合である。収縮時の内側円の領域 (すなわち内腔: A_{ic}) は

$$A_{ic} = \pi R_{ec}^2 - \pi R_{er}^2 \times PW \text{ となる。}$$

よって収縮時の内側円の半径 (R_{ic}) は

$$\begin{aligned} R_{ic} &= \sqrt{(\pi R_{ec}^2 - \pi R_{er}^2 \times PW) / \pi} \\ &= \sqrt{R_{ec}^2 - PW} \\ &= \sqrt{(1 - PMC \times PMS)^2 - PW} \text{ となる。} \end{aligned}$$

正常の PW (PW_n) における気道内の R_{ir} は

$$R_{ir} = \sqrt{1 - PW_n} \text{ となる。}$$

気道抵抗の変化 (ΔR_{aw}) は

$$\Delta R_{aw} = (R_{ic} / R_{ir})^{-4} \text{ となる。}$$

PMS , PMC , そして PW を用いると

$$\Delta R_{aw} = (\sqrt{(1 - PMC \times PMS)^2 - PW} / \sqrt{1 - PW_n})^{-4} \text{ となる。}$$

近年、気道粘膜浮腫による気道狭窄が気道過敏性の亢進に影響を与えることが示唆されている。上記のPoiseuilleの法則からの数式でも気道抵抗の増加には気道平滑筋の収縮の増加だけでなく気道壁の肥厚 (気道粘膜浮腫) もパラメーターとなっており、 PW が PW_n (正常の気道壁の肥厚の程度) より増加、すなわち気道粘膜浮腫が生じると ΔR_{aw} (気道抵抗の増加) が増強される。Bensonらは気道炎症が気道過敏性を亢進させる機序として気道粘膜浮腫による気道壁の肥厚が気道平滑筋が収縮する際の気道の狭窄をより増強させるためと指摘して

おり (1)、Morenoらも気道抵抗のベースラインをわずかに変化させる気道壁の肥厚が喘息患者においては刺激に対する気道反応性を著しく増強させると指摘している (131)。Jamesらはin vitroにおいて喘息患者の気管支では気道抵抗のベースラインは気道壁の肥厚によりわずかに増加するが、気道平滑筋が収縮すると気道抵抗の増加は健常人と比較して著しく増強すると指摘している (136、140)。Woolcockらは健常人においては気道平滑筋の最大収縮時にはF E V_{1.0}の減少はプラトーになるが、喘息患者の場合は減少し続けると報告している (141)。また、気道粘膜の浮腫により喘息患者は健常人と比較し気道平滑筋の収縮が軽度でも容易に気道狭窄を引き起こすことが可能になる。よって気道過敏性を測定する際、気道壁の肥厚の影響を考慮しなければならない。そこで本研究では前述の如く気道平滑筋の収縮力の増加を純粋な気道過敏性亢進とみなし気道粘膜浮腫の形成とは別に測定することを可能にする塚越らが考案した計算式 (132) を用いた。

本実験系において、アラキドン酸代謝産物投与前にまずヒスタミンの静脈内投与により気道抵抗値の急峻な上昇を認めるがこれは純粋な気道平滑筋の収縮によるものと考えられ、次にアラキドン酸代謝産物を静脈内に持続投与すると気道抵抗値のベースラインが徐々に増加しその後プラトーになるが、これは気道平滑筋収縮作用ではなく気道粘膜浮腫による気道狭窄が原因と考えられる。その後再びヒスタミンを静脈内投与すると気道平滑筋の収縮率が増強し (すなわち気道過敏性が亢進し)、気道抵抗値の上昇が増強されるわけである。そして前述の如く気道粘膜浮腫と気道過敏性の2つの現象を4ポイントの気道抵抗値①アラキドン酸代謝産物投与前ヒスタミン投与前Rawr₀②アラキドン酸代謝産物投与前ヒスタミン投与後Rawc₀③アラキドン酸代謝産物投与後ヒスタミン投与前Rawr₁④アラキドン酸代謝産物投与後ヒスタミン投与後Rawc₁、から算出できることがこの計算式の特徴である。さらにこの計算式は気道抵抗値のベースラインの上昇が気道粘膜浮腫のみの影響であることが条件であるため、この時点においてモルモットを解剖し組織学的に証明した。そして理論的に算出したPWと組織

学検討から算出したPWに相関性が認められたことより計算式の正当性が示されたわけである。尚、本研究では組織学検討において末梢気道のみ有意なPWの増加を認めたが、中枢気管支、中間気管支、末梢気管支のすべてをまとめたデータで比較検討したが、やはり同様に有意にPWの増加を認めた。この結果は気道を単一の円筒と仮定することに矛盾がないことを示すものと考えられる。

2 アラキドン酸代謝産物静脈内投与による気道過敏性亢進

近年、気管支喘息は慢性の気道炎症性疾患とされ、気道過敏性も気道炎症の結果もたらされたものとの考えがある(1、2、3、4、6)。喘息における気道炎症には前述の如く肥満細胞、マクロファージ、好酸球、好中球、気道上皮細胞、血小板などが関与し、これらの細胞が直接、あるいは間接的に化学伝達物質やサイトカインなどの炎症性メディエーターを介し、気道過敏性を亢進させている可能性が指摘されている。各種炎症性メディエーターは気道内の標的細胞に対して様々な効果を示すが、この反応が気道平滑筋を直接あるいは二次的に遊離されるメディエーターや神経機構により間接的に収縮させると考えられている。さらに粘膜下の腺組織からの分泌を増加させ、気道上皮を介する液体輸送を増加させ、また微小循環系の漏出の増加により気道粘膜の浮腫、気道内腔への血漿成分の滲出を引き起こす。炎症性メディエーターはまた炎症細胞を遊走、活性化させ、さらに二次的なメディエーターの遊離を惹起し、気道内での炎症反応、気道過敏性を持続、強化させている。

気道過敏性に関与する炎症性メディエーターにはヒスタミン、セロトニン、ブラジキニン、プロスタグランジン、ロイコトリエンなどが知られているが、本研究では炎症性メディエーターの中で最も注目されているアラキドン酸代謝産物を用い、リポキシゲナーゼ系代謝産物であるLTC₄、LTD₄、シクロオキシゲナーゼ系代謝産物である

$9\alpha,11\beta$ -PGF₂、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} がモルモット気道過敏性の形成にどう関わるかをLT受容体拮抗薬ONO-1078および

TXA₂受容体拮抗薬ONO-NT-126、ONO-8809を用いて検討した。尚、本研究では薬剤の投与を経静脈的に行っているが、従来の報告では経気道的に投与されたものが多い。経静脈的投与の場合、全身投与になるためその効果も気道のみでなく全身の臓器に影響すると考えられ、気道のみにも局所的に作用する吸入法とは作用機序が異なるとも考えられるが、本研究の場合アラキドン酸代謝産物を1時間かけて静脈内に持続投与するため、この時間内に炎症細胞は気道内に集積してくると考えられ、実際に組織学的検討においても好中球、好酸球を中心とした炎症細胞の集積を認めた。また、アラキドン酸代謝産物を低濃度で持続投与するため測定値にばらつきが生じやすく、薬剤投与量が一定となる経静脈的投与が最も安定した投与方法と考えられた。

本研究ではin vivoにおいて気道過敏性の亢進を気道粘膜浮腫形成と気道平滑筋の収縮力の増強に区別することが可能になった。今回の実験ではモルモットにLTC₄、LTD₄、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂を静脈内に持続投与すると呼吸抵抗のベースラインがわずかに上昇したがこれが

PWの増加分であり血管透過性亢進による気道粘膜浮腫の形成と考えられた。さらに、LTC₄、LTD₄、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂静脈内持続投与後のヒスタミンのbolus shotによる気道平滑筋収縮(PMS₁)は投与前の気道平滑筋収縮(PMS₀)に比較し増強することが示され、気道平滑筋の収縮力が増強し、気道過敏性が亢進したと考えられた。一方、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} 静脈内持続投与は気道粘膜浮腫を形成することなくヒスタミンに対する気道平滑筋収縮を増強させ、気道過敏性を亢進させることが示された。気道粘膜浮腫はPWというパラメータの増加により証明したが、これは気道粘膜浮腫のない気道における気道壁の気道に占める割合(PW₀)をJamesらの報告(136)により0.200と仮定した場合の数値であるが、同時に行った組織学的検討においても対照群である生食液投与後のPWは0.15~0.19の数値を示し、さらにLTC₄、LTD₄、 $9\alpha,11\beta$ -PGF₂の静脈内持続投与

によりPWは0.18~0.22と増加し、本実験で用いた式から得られた値と相関性を示したことから今回用いた式の正当性がある程度証明されたと考えられる。LTC₄、LTD₄は血管透過性亢進による微小血管漏出により気道粘膜浮腫形成を惹起するとの報告は多く(116、118、142)、本実験も従来の報告を支持する結果であった。PGD₂は皮膚において血管透過性を亢進させる作用を持つが(73)、9 α ,11 β -

PGF₂が微小血管漏出を起こす作用についてはまだ確立されていない。しかし今回の検討により生物学的の活性のあるプロスタグランジンである9 α ,11 β -PGF₂が気道における微小血管漏出に関与する可能性が示唆された。13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} の微小血管透過性亢進や気道粘膜浮腫形成に関する報告はいまのところなく、PGF_{2 α} が微小血管透過性を亢進させるかも不明である。しかしながら実験結果より13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} はモルモットにおいては微小血管透過性亢進による気道粘膜浮腫形成を惹起しないと考えられる。一方、LTC₄、LTD₄、9 α ,11 β -PGF₂静脈内持続投与は組織学的検討において末梢気道優位に気道粘膜浮腫を形成したが、モルモット肺ではLTC₄、LTD₄の作用は末梢気道が優位であるとの指摘があり(142)、LTC₄、LTD₄はモルモットでは気管よりも肺実質において強力な平滑筋収縮作用を持ち(143)、静脈内投与により中枢気道を反映する気道抵抗の上昇よりも末梢肺機能を反映する動肺コンプライアンスの低下がより強く認められるとの報告がある(144)。本実験でもLTC₄、LTD₄持続投与後にヒスタミンのbolus shotにより気道抵抗の上昇および動肺コンプライアンスの低下を認めたが、気道抵抗の回復後も動肺コンプライアンスの低値は継続しており従来の報告を支持するものであった。Drazenらは喘息患者の末梢気道においてLTC₄、LTD₄が間欠的に放出されており他のメディエーターに対する末梢気道の反応性を高めていると指摘している(142)。

本実験系では気道過敏性を気道粘膜浮腫と気道平滑筋の収縮力の増強の二つを別々に求めることが可能になったため、気道粘膜浮腫の影響を除外した気道平滑筋の収縮力の増強を検討した結果、LTC₄、

LTD₄、9 α ,11 β -PGF₂、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2 α} すべてが静脈内持続投与後にヒスタミンによる気道平滑筋収縮を増強させ、気道過敏性を亢進させることが示された。本実験系はin vivoであるためヒスタミンのbolus shotによる気道抵抗の急峻な上昇は気道平滑筋の収縮以外にも気道粘膜浮腫による気道内腔の狭小化が作用すると考えられるが、Poiseuilleの法則とMorenoらの報告をもとに気道抵抗値より気道平滑筋の収縮率を計算し、間接的に気道平滑筋の収縮力の変化をみることが可能になった。さらに本実験においてヒスタミン1.8 μ g/kg投与よりも3.6 μ g/kg投与のPMS比が小さくなっているが、これは気道平滑筋の収縮においては濃度反応曲線はSigmoid曲線になるため1.8

μ g/kgが急峻な上昇に相当し3.6 μ g/kgが緩やかな上昇に相当すると考えられ、in vitroにおける気道平滑筋の収縮反応と相関性があると考えられた。

LTC₄、LTD₄の気道過敏性亢進に関しては様々な報告がみられ、Kernらは健常人にLTD₄を吸入させるとメサコリンに対する反応性が増大し(145)、Barnesらも健常人にLTC₄、LTD₄を吸入させるとヒスタミンに対する反応性が増強することを報告している(127)。しかしこれらはin vivoの検討であり前述の如くこれらの気道反応性の亢進は気道粘膜浮腫と気道平滑筋の収縮力の増強の相乗作用で起こったものと予想される。これに対しWeissらはLTD₄によりヒスタミン投与後のモルモット気管支からの活性酸素産生量が増加することを報告し(146)、CreeseらはLTC₄、LTD₄がモルモット摘出気管支の細胞膜のCa²⁺流入量を増加させヒスタミン、アセチルコリンに対する気道平滑筋の反応性を増大させると報告しており(124)、これらはLTC₄、LTD₄が気管支平滑筋の収縮力を直接増強させることを示している。9 α ,11 β -PGF₂の気道過敏性形成に関しては未だ報告は認められないが、喘息患者に9 α ,11 β -PGF₂を吸入させるとPGD₂と同程度の気管支収縮反応を惹起するという報告(40)、およびPGD₂がヒト気管支平滑筋のメサコリンに対する反応性を亢進させるとの報告(147)より9 α ,11 β -PGF₂もPGD₂と同様な作用をもつ

と示唆される。一方、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}に関しては抗原チャレンジ後や運動による喘息発作誘発時に血漿中の13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}値が上昇することが報告されており(80、148)、13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}の気管支喘息への関与が指摘されているが、気道過敏性に関するPGF_{2α}の臨床的、基礎的研究は少なくO'Bryneら(149)やFeatherstoneら(150)の報告を認めるにすぎない。本実験結果からPGF_{2α}の安定代謝産物である13,14-dihydro-15-keto-PGF_{2α}がモルモット気道粘膜に浮腫を形成することなくヒスタミンに対する気道過敏性を亢進させたが、PGF_{2α}は気道粘膜浮腫形成を惹起しないとの報告もあり(2)、本実験結果はこれらの報告を支持するものと考えられた。

3 LT受容体およびTXA₂受容体の働き

今回の実験ではロイコトリエン拮抗薬としてONO-1078、そしてトロンボキサン拮抗薬であるONO-NT-126およびONO-8809といういずれも新しい拮抗薬を用いた。ペプチドロイコトリエン拮抗薬は1973年Augsteinら(151)によるFPL-55712の発見が最初であるが、これまでの研究によりアセトフェノン骨格を有するもの(FPL-55712、LY-171883、L-649923)、ロイコトリエン構造類似化合物(SKF-104353、U-1905)、その他の化合物(KC-404、ONO-1078、WY-48252)の3種類に分類されている。ONO-1078はLTC₄、LTD₄、LTE₄に対する選択的受容体拮抗薬であるが、LTC₄、LTD₄はin vivoで急速にLTE₄に変換されることが知られており(125)、in vitroではONO-1078は強力で高い選択性をもちLTC₄受容体よりもLTD₄、LTE₄の受容体に高い親和性を持つペプチドロイコトリエンの受容体拮抗薬であることが報告されている(152)。ONO-1078の作用に関しては、Adaikanらはin vitroにおいてLTC₄、LTD₄によるヒトあるいはモルモット摘出気管支の収縮反応を特異的に抑制し、その作用が同じLT拮抗薬であるFPL-55712よりも100倍以上強力で

あることを報告している (153)。Yamaguchiらもヒト摘出気管支を用い、ONO-1078が LTC_4 、 LTD_4 による気管支収縮反応を抑制することを報告し (154)、Obataらはin vivoにおいてONO-1078がモルモット気管支収縮反応を抑制することを報告している (155)。今回の検討では、ONO-1078は組織学的検討において LTC_4 、 LTD_4 による末梢気管支の気道粘膜浮腫形成を有意に抑制したことより、 LTC_4 、

LTD_4 による気道粘膜浮腫は気道内に存在する LTC_4 と LTD_4 の受容体を介して形成すると考えられた。 LTD_4 による皮膚血管透過性亢進作用はヒスタミンやセロトニン、そしてシクロオキシゲナーゼ系代謝産物の遊離とは独立すると報告されており (156)、 LTD_4 の直接作用と考えられている。さらにONO-1078は能動感作されたモルモットにおいて抗原誘発の気道微小血管漏出を有意に抑制し、一方感作モルモットにおいてペプチドロイコトリエンに対して強力な拮抗作用を持つアゼラスチン (157) は気道内への微小血管漏出を抑制しなかったと報告されている (158)。ONO-1078はまた LTC_4 、 LTD_4 によるヒスタミンに対する気道平滑筋収縮率の増強にも抑制的に作用し、新しいLT拮抗薬 (159、160、161) の中で最も強力な作用を有すると考えられる。これらの結果からモルモット気道内にはLT受容体が気道内微小血管および気道平滑筋に存在し、LT拮抗薬ONO-1078はこの両者に作用することより LTC_4 、 LTD_4 による気道粘膜浮腫形成およびヒスタミンに対する気道平滑筋収縮率の増加、すなわち気道過敏性の亢進作用を抑制することが示唆された。

一方、 TXA_2 受容体拮抗薬であるONO-NT-126およびONO-8809を用いた検討においては新たな知見を得た。 TXA_2 受容体はプロスタノイド受容体の1つであるが、気道内におけるプロスタノイド受容体にはまだ不明なところが多く、Gardinerらはヒトおよびモルモット気道において3種類のプロスタノイド受容体 χ (contractant)、 ψ (relaxant)、 ω (irritant) が存在することを報告し (162)、Kennedyらも種々の動物を用いてプロスタノイド受容体EP (PGE_2 受容体)、FP ($PGF_{2\alpha}$ 受容体)、TP (TXA_2 受容体)、DP (PGD_2 受容体)、I

P (PGI₂受容体) の存在を報告した (163)。しかしながら Mckenniffらはモルモットおよびヒト気道においてすべてのプロスタノイドはTP受容体を介して作用すると指摘しており (164)、Hamid BloomfieldらはPGD₂の気管支収縮作用はDP拮抗薬であるBWA 868Cでは抑制されずTP拮抗薬であるBM13177により抑制されることを報告しており (165)、現在までのところヒトおよびモルモットの気道においてはTPの関与が最も強く示唆されている。TXA₂は強力な気管支収縮作用を有し、さらにLTC₄、LTD₄、オゾン、血小板活性化因子 (PAF)、抗原、エンドトキシン、LTB₄などによる気道過敏性形成に関与することが示唆されており、気管支喘息の病態に深く関与していることが推定される。よってTXA₂合成酵素阻害薬およびTXA₂受容体拮抗薬によりTXA₂を制御することは喘息の治療に有用であると考えられる。Aizawaらはイヌにオゾンを吸入させるとアセチルコリンに対する気道過敏性が亢進するが、TXA₂合成阻害薬OKY-046の静脈内投与によってオゾンによる気道過敏性亢進が抑制されることを報告した (60)。また、Arimuraらは卵白アルブミンによる感作モルモットにおける気道過敏性亢進をTXA₂拮抗薬S-1452が抑制することを示し、気道過敏性亢進におけるTXA₂の関与の可能性を報告した (166)。さらにFujimuraらは喘息患者に4日間TXA₂拮抗薬AA-2414を投与した結果有意に気道過敏性が改善したと報告している (167)。一方、同じアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ系代謝産物であるPGD₂、9 α ,11 β -PGF₂、PGF_{2 α} 、そしてリポキシゲナーゼ系のLTC₄、LTD₄の気道内での作用にTXA₂が関与するという指摘もみられる。BeasleyらはヒトにおけるPGD₂吸入による気道収縮反応がTXA₂受容体拮抗薬GR-32191により抑制され (57)、Coleman (168) やFeatherstoneら (169) はPGD₂、PGF_{2 α} 、9 α ,11 β -PGF₂がTXA₂受容体を介してヒトおよびモルモット気管支平滑筋を収縮させると報告している。FujimuraらはLTC₄の吸入による気道反応性をTXA₂拮抗薬が抑制すると報告し (170)、MuccitelliらもLTD₄によるモルモットの気管支収縮反応がTXA₂合

成酵素阻害剤であるUK-37248により抑制されることを報告している (171)。またVargaftigらも $LT C_4$ 、 $LT D_4$ による気道過敏性形成に $T X A_2$ が関与する可能性を報告している (172)。

本実験においては $T X A_2$ 受容体の作用機序を明らかにするため、シクロオキシゲナーゼ系代謝産物である $9\alpha, 11\beta$ - $P G F_2$ 、 $13, 14$ -dihydro- 15 -keto- $P G F_{2\alpha}$ およびリポキシゲナーゼ系代謝産物である $LT C_4$ 静脈内持続投与による気道過敏性形成に対する $T X A_2$ 受容体拮抗薬であるONO-NT-126およびONO-8809前投与の効果を検討した。本実験に先だって基礎実験として塚越らは $T X A_2$ の安定類似化合物である $9, 11$ -epithio- $11, 12$ -methano- $T X A_2$ (ONO-11113) の静脈内持続投与がモルモット気道粘膜に浮腫を形成せず、気道過敏性を亢進させることを報告した (173)。さらに本実験では以下の結果を得た。

① $9\alpha, 11\beta$ - $P G F_2$ 静脈内持続投与によりモルモット気道粘膜浮腫が形成され、ヒスタミンに対する気道平滑筋収縮率が増強し、気道過敏性が亢進した。 $T X A_2$ 受容体拮抗薬であるONO-NT-126およびONO-8809の前投与はこの両者の作用を濃度依存性に抑制した。

② $13, 14$ -dihydro- 15 -keto- $P G F_{2\alpha}$ 静脈内持続投与によりモルモット気道粘膜浮腫は形成されず、ヒスタミンに対する気道平滑筋収縮率が増強し、気道過敏性が亢進した。 $T X A_2$ 受容体拮抗薬であるONO-NT-126およびONO-8809の前投与は気道過敏性亢進作用を濃度依存性に抑制した。

③ $T X A_2$ 受容体拮抗薬であるONO-NT-126およびONO-8809の前投与は $LT C_4$ 静脈内持続投与によるヒスタミンに対するモルモット気道過敏性亢進作用を部分的に抑制した。

これらの結果よりモルモット気道内の $T X A_2$ 受容体に作用するメディエーターについて以下の作用機序を推定した。すなわちモルモット気道内には気道平滑筋に存在し気道平滑筋収縮率の増加、すなわち気道過敏性亢進に関与する受容体 (TP1) と微小血管に存在し気道粘膜浮腫形成に関与する受容体 (TP2) が存在し、 $9\alpha, 11\beta$ - $P G F_2$ は

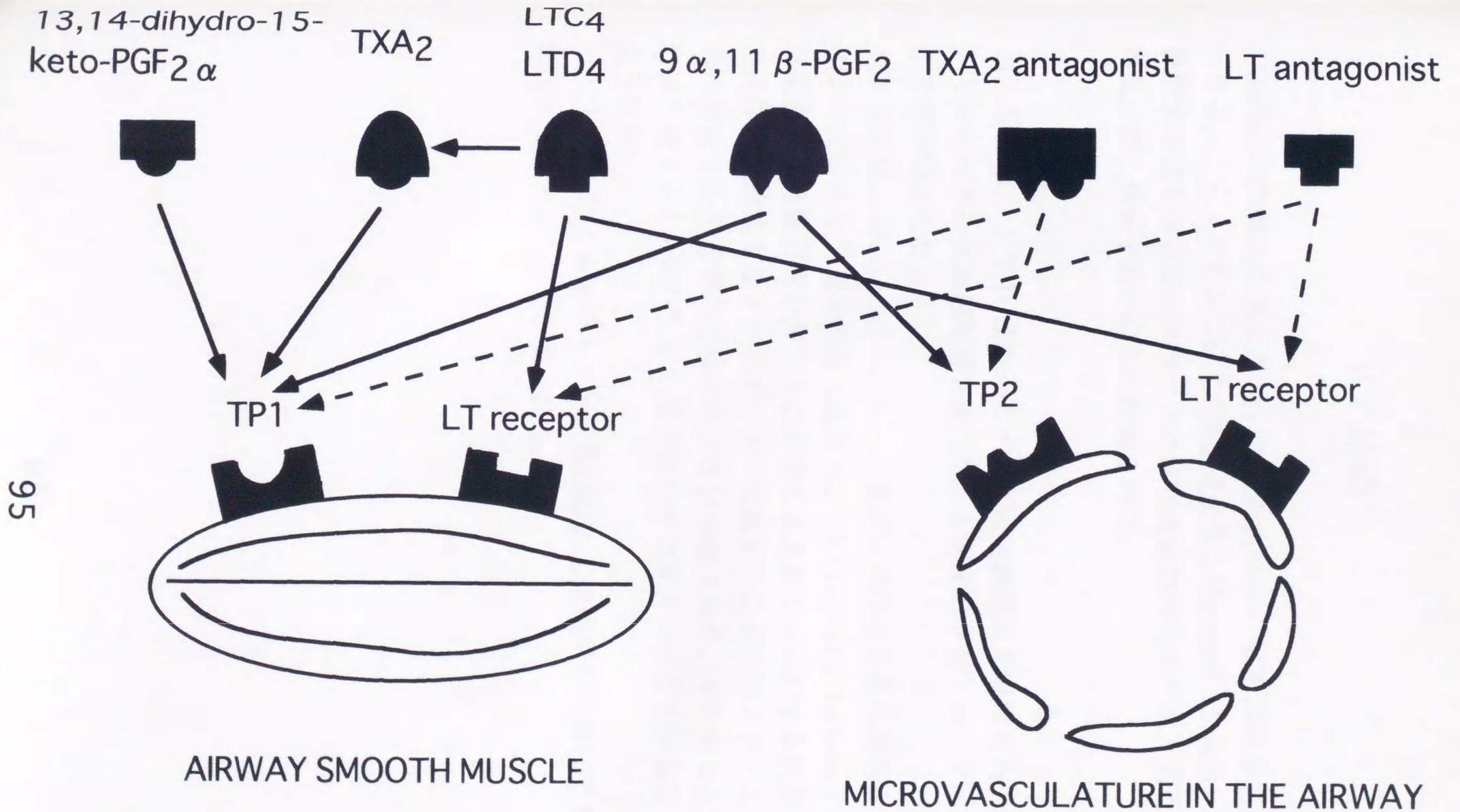
TP1とTP2の両方に作用し気道過敏性の亢進および気道粘膜浮腫

形成を惹起する。そして TXA_2 受容体拮抗薬ONO-NT-126およびONO-8809はTP1およびTP2の両者に作用すると考えられる。13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ はTP1のみに作用し気道過敏性の亢進を惹起し、ONO-NT-126およびONO-8809はTP1の作用を抑制すると考えられる。一方、 LTC_4 の気道過敏性亢進作用のみがONO-NT-126およびONO-8809で部分的に抑制され、さらに TXA_2 自身がTP1のみに作用しTP2には作用しないことより、 LTC_4 が

TXA_2 を産生しその TXA_2 をONO-NT-126およびONO-8809がTP1を介して抑制すると考えられ、 LTC_4 による気道過敏性の亢進には

LT受容体と TXA_2 受容体の両者が関与していると予想される。Kurosawaらは本実験系を用いて LTC_4 による気道平滑筋収縮率の増加が TXA_2 合成阻害剤OKY-046により部分的に抑制されることを指摘しており(174)、本実験における LTC_4 の作用機序の正当性を支持しているものと考えられる。本実験の結果をもとにモルモット気道における $9\alpha,11\beta\text{-PGF}_2$ 、13,14-dihydro-15-keto- $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、 LTC_4 、 LTD_4 と TXA_2 受容体、LT受容体、および TXA_2 拮抗薬、LT拮抗薬の関係をシェーマに示す(Figure 43)。このシェーマは薬理学的検討結果に基づくもので、気道における TXA_2 受容体、LT受容体が同定されなければ正しいか否か不明である。さらにヒト気道においても同様のことがあてはまるかも不明である。種差に関し、イヌでは

TXA_2 はアセチルコリンの遊離を増強し、プレシナプティックな効果を介して気道過敏性に関与することが明らかにされており(175)、モルモットにおけるメカニズムとは異なることも考えられる。しかしながら今回の検討結果は、気道過敏性形成にアラキドン酸代謝産物が深く関与し、 TXA_2 受容体拮抗薬、LT受容体拮抗薬が喘息に対し有効な治療薬となりうる可能性を示し、抗喘息薬開発の上で何らかの示唆を与えるものと考えられる。



95

Figure 43. Schematic representation of possible interaction between LTC₄ (LTD₄), 9α,11β-PGF₂, 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂α, LT antagonist and TXA₂ antagonist in the airway of guinea pigs.

V 結論

Morenoらの報告を基にした、気道抵抗値から気道粘膜浮腫の指標 (PW)、ヒスタミンに対する気道過敏性亢進の指標 (PMS) を各々算出する式を用いて、アラキドン酸代謝産物のモルモット気道過敏性形成に関し検討を行い以下の結論を得た。

1) $LT C_4$ 、 $LT D_4$ はモルモット気道粘膜浮腫形成作用およびヒスタミンに対する気道過敏性亢進作用を惹起するメディエーターであることが示唆された。

2) $9\alpha, 11\beta$ - $PG F_2$ はモルモット気道粘膜浮腫形成作用およびヒスタミンに対する気道過敏性亢進作用、 $13, 14$ -dihydro- 15 -keto- $PG F_{2\alpha}$ は気道粘膜浮腫形成をおこすことなくヒスタミンに対する気道過敏性亢進作用を惹起するメディエーターであり、これらのメディエーターの作用は $TX A_2$ 受容体を介することが示唆された。モルモット気道内には少なくとも2つの $TX A_2$ 受容体のサブタイプが存在することが推定された。

3) $LT C_4$ によるモルモット気道過敏性亢進作用の一部に $TX A_2$ 受容体が関与することが示唆された。

VI 謝辞

本研究を進め本論文をまとめるにあたっては多くの先生方にお世話になりました。指導教官として多大な御配慮をいただきました筑波大学臨床医学系 三井利夫教授および三井清文助教授に深く感謝の意を表します。

研究実施にあたり直接御指導をしていただきました群馬大学皮膚科学教室 黒沢元博講師、群馬大学第一内科学教室 塚越秀男先生に心から感謝申し上げます。

本研究をまとめるに際しては、多大な御協力を頂きました筑波大学臨床医学系 鬼塚正孝講師、石川成美講師ならびに筑波大学付属病院呼吸器外科の先生方に御礼申し上げます。

VII 文献

- 1) Benson, M.K. : Bronchial hyperreactivity. *Brit. J. Dis. Chest.*, 69 : 227-239, 1975.
- 2) Barnes, P.J., Chung, K.F., Page, C.P. : Inflammatory mediators and asthma. *Pharmacol. Rev.*, 40 : 49-84, 1988.
- 3) Glynn, A.A. and Michaels, L. : Bronchial biopsy in chronic bronchitis and asthma. *Thorax*, 15 : 142-153, 1960.
- 4) Dunnill, M.S. : The pathology of asthma with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J. Clin. Pathol.*, 13 : 27-33, 1960.
- 5) Laitinen, L.A., Heino, M., Laitinen, A., Kava, T. and Haahtela, T. : Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131 : 599-606, 1985.
- 6) Chung, K.F. : Role of inflammation in hyperreactivity of the airways in asthma. *Thorax*, 41 : 657-662, 1986.
- 7) Boushey, H.A., Holtzman, M.J., Sheller, J.R. and Nadel, J.A. : Bronchial hyperreactivity. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 121 : 389-413, 1980.
- 8) Robinson, C. & Holgate, S.T. : Mast cell-dependent inflammatory mediators and their putative role in bronchial asthma. *Clin. Sci.*, 68 : 103-112, 1985.
- 9) Wasserman, S.I. : Mediators of immediate hypersensitivity. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 72 : 101-115, 1983.
- 10) Cockcroft, D.W. and Murdock, K.Y. : Comparative effects of inhaled salbutamol, sodium cromoglycate, and beclomethasone dipropionate on allergen-induced early asthmatic responses, late asthmatic responses, and increased bronchial responsiveness to histamine. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 79 : 734-740, 1987.
- 11) Joseph, M., Tonnel, A.B., Tarpier, G. and Capron, A. : Involvement of immunoglobulin E in the secretory process of alveolar macrophages from asthmatic patients. *J. Clin. Invest.*, 71 : 221-230, 1983.

- 12) Fuller, R.W., Kersey, C.R., Cole, P.J., Dollery, C.T. and MacDermot, J. : Dexamethasone inhibits the production of thromboxane B₂ and leukotriene B₄ by human alveolar and peritoneal macrophages in culture. *Clin. Sci.*, 67 : 653-656, 1984.
- 13) De Monchy, J.G.R., Kauffman, H.F., Venge, P., Koeter, G.H., Jansen, H.M., Slutter, H.J. and De Vries, K. : Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131 : 373-376, 1985.
- 14) Frigas, E. and Gleich, G.J. : The eosinophil and the pathology of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 77 : 527-537, 1986.
- 15) Taylor, K.J. and Luksza, A.R. : peripheral blood eosinophil counts and bronchial responsiveness. *Thorax*, 42 : 452-456, 1987.
- 16) Weller, P.F., Lee, C.W., Foster, D.W., Corey E.J., Austen, K.F. and Lewis, R.A. : Generation and metabolism of 5-lipoxygenase pathway leukotrienes by human eosinophils : predominant production of leukotriene C₄. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80 : 7626-7630, 1983.
- 17) Lee, T.C., Lenihan, D.J., Malone, B., Roddy, L.L. and Wasserman, S.I. : Increased biosynthesis of platelet-activating factor in activated human eosinophils. *J. Biol. Chem.*, 208 : 353-357, 1981.
- 18) Drazen, J.M. and Austen, K.F. : Leukotrienes and airway responses. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136 : 985-998, 1987.
- 19) Goldstein, I.M., Malmsten, C.L., Kindahl, H., Kaplan, H.B., Radmark, O., Samuelsson, B. and Weissmann, G. : Thromboxane generation by human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.*, 148 : 787-792, 1978.
- 20) Lynch, J.M. and Henson, P.M. : The intracellular retention of newly synthesized platelet-activating factor. *J. Immunol.*, 137 : 2653-2661, 1986.
- 21) Mann, J.S., Renwick, A.G. and Holgate, S.T. : Release of adenosine and its metabolites from activated human leukocytes. *Clin. Sci.*, 70 :

461-468, 1986.

22) Murphy, K.R., Marsh, W.R., Grezen, L.S., Irvin, C.G., Wilson, M.C. and Larsen, G.L. : Inflammation and the late phase reaction in asthma : the effect of polymorphonuclear leukocyte depletion on airways obstruction and bronchial hyperreactivity in an animal model. *Bull Physiopathol. Resp.*, 22 : 48-53, 1980.

23) Flavahan, N.A., Aarhus, L.L., Rimele, T.J. and Vanhoutte, P.M. : Respiratory epithelium inhibits bronchial smooth muscle tone. *J. Appl. Physiol.*, 58 : 834-838, 1985.

24) Barnes, P.J., Cuss, F.M.C. and Palmer, J.B.D. : The effect of airway epithelium on smooth muscle contractility in bovine trachea. *Br. J. Pharmacol.*, 86 : 685-691, 1985.

25) Cuss, F.M. and Barnes, P.J. : Epithelial mediators. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136 : S42-S45, 1987.

26) Barnes, P.J. : Asthma as an axon reflex. *Lancet*, 1 : 242-245, 1986.

27) Holtzman, M.J., Aizawa, H., Nadel, J.A. and Goetzl, E.J. : Selective generation of leukotriene B₄ by tracheal epithelium cells from dogs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 114 : 1071-1076, 1983.

28) Hunter, J.A., Finkbeiner, W.E., Nadel, J.A., Goetzl, E.J. and Holtzman, M.J. Predominant generation of 15-lipoxygenase metabolites of arachidonic acid by epithelial cells from human trachea. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82 : 4633-4637, 1985.

29) Morley, J., Sanjar, S. and Page, C.P. : Platelet activation as a basis for asthma exacerbation. *Lancet*, 2 : 1142-1144, 1984.

30) Joseph, M., Auriault, C., Capron, A., Vorng, H. and Viens, P. : A new function for platelets : IgE-dependent killing of schistosomes. *Nature(Lond.)*, 303 : 310-312, 1983.

31) Empey, D.W., Laintinen, L.A., Jacobs, L., Gold, W.M. and Nadel, J.A. : Mechanisms of bronchial hyperreactivity in normal subjects following upper respiratory tract infection. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 113 : 131-139,

1976.

32) Holtzman, M.J., Cunningham, J.H., Sheller, J.R., Irsigler, G.B., Nadel, J.A. and Boushey, H.A. : Effect of ozone on bronchial reactivity in atopic and non atopic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 120 : 1059-1067, 1979.

33) Cockcroft, D.W., Ruffin, R.E., Dolovich, J. and Hargreave F.E. : Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity. *Clin. Allergy*, 7 : 503-513, 1977.

34) Lands, W.M. and Samuelsson, B. : Phospholipid precursor of prostaglandins. *Biochem. Biophys. Acta.*, 164 : 426-430, 1968.

35) McGiff, J.C., Terragno, N.A., Strand, J.C., Lee, J.B., Lonigro, A.J. and Ng, K.K.F. : Selective passage of prostaglandins by the lung. *Nature(Lond.)*, 223 : 742-745, 1969.

36) Piper, P.J., Vane, J.R. and Wyllie, J.H. : Inactivation of prostaglandins by the lung. *Nature(Lond.)*, 225 : 600-605, 1970.

37) Hyman, A.L. and Kadowitz, P.J. : Pulmonary vasodilator activity of prostacyclin(PGI₂) in the cat. *Circ. Res.*, 42 : 404-409, 1979.

38) Bito, L.Z. : Accumulation and apparent active transport of prostaglandins by some rabbit tissues in vitro. *J. Physiol.*, 221 : 371-387, 1972.

39) Bito, L.Z., Baroody, R.A. and Reitz, M.E. : Dependence of pulmonary prostaglandin metabolism on carrier-mediated transport processes. *Am. J. Physiol.*, 51 : 382-387, 1977.

40) Beasley, C.R.W., Robinson, C., Featherstone, R.L., Varley, J.G., Hardy, C.C., Church, M.K. and Holgate, S.T. : 9-Alpha, 11-beta-prostaglandin F₂, a novel metabolite of prostaglandin D₂, is a potent contractile agonist of human and guinea-pig airways. *J. Clin. Invest.*, 79 : 978-983, 1987.

41) Liston, T.E. and Roberts, L.J. II . : Metabolic fate of radiolabelled prostaglandin D₂ in a normal human volunteer. *J. Biol. Chem.*, 260 : 13172-13178, 1985.

- 42) Adkinson, N.F., Newball, H.H., Findlay, S., Adams, K. and Lichtenstein, L.M. : *Am. Rev. Respir. Dis.*, 121 : 911-920, 1980.
- 43) Schulman, E.S., Adkinson, N.F.Jr. and Newball, H.H. : Cyclooxygenase metabolites in human lung anaphylaxis airway vs. parenchyma. *J. Appl. Physiol.*, 53 : 589-595, 1982.
- 44) Schulman, E.S., Newball, H.H., Demaers, L.M., Fitzpatrick, F.A. and Adkinson, N.F. : Anaphylactic release of thromboxane A₂, prostaglandin D₂, and prostacyclin from human lung parenchyma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 124 : 402-406, 1981.
- 45) Steel, L., Platshon, L. and Kaliner, M. : Prostaglandin generation by human and guinea-pig lung tissue : comparison of parenchymal and airway responses. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 64 : 287-293, 1979.
- 46) Holgate, S.T., Burns, G.B., Robinson, C. and Church, M.K. : Anaphylactic and calcium-dependent generation of prostaglandin D₂ (PGD₂), thromboxane B₂, and other cyclooxygenase products of arachidonic acid by dispersed human lung cells and relationship to histamine release. *J. Immunol.*, 133 : 2138, 1984.
- 47) Lewis, R.A., Soter, N.A., Diamond, N., Austen, K.F., Oates, J.A. and Roberts, L.J. II. : Prostaglandin D₂ generation after activation of rat and human mast cells with anti-IgE. *J. Immunol.*, 129 : 1627-1631, 1982.
- 48) Murray, J.J., Tonnel, A.B., Brash, A.R., Roberts, L.J., Gosset, P., Workman, R., Capron, A. and Oates, J.A. : Release of prostaglandin D₂ into human airways during acute antigen challenge. *N. Engl. J. Med.*, 315 : 800-804, 1986.
- 49) Leikauf, G.D., Ueki, I.F., Nadel, J.A. and Widdicombe J.H. : Bradykinin stimulates chloride secretion and prostaglandin E₂ release by canine tracheal epithelium. *Am. J. Physiol.*, 248 : F48-F55, 1985.
- 50) Black, J.L., Armour, C.L., Vincenc, K.S. and Johnson, P.R.A. : A comparison of the contractile activity of PGD₂ and PGF_{2α} in human isolated bronchus. *Prostaglandins*, 32 : 25-31, 1986.

51) Sheard, P. : The effect of Prostaglandin E_1 on isolated bronchial muscle from man. *J. Pharmacol.*, 20 : 232-233, 1968.

52) Hutas, I., Hadhazy, P., Debreczeni, L. and Vizi, E. : Relaxation of human isolated bronchial smooth muscle : Role of prostacyclin and prostaglandin $F_{2\alpha}$ on muscle tone. *Lung*, 159 : 153-161, 1981.

53) Newball, H.H. and Lenfant, C. : The influence of atropine and cromolyn on human bronchial hyper-reactivity to aerosolized prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Respir. Physiol.*, 30 : 125-136, 1977.

54) Thomson, N.C., Roberts, R., Bandenkavis, J., Newball, H. and Hargreave, F.E. : Comparison of bronchial response to prostaglandin $F_{2\alpha}$ and methacholine. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 68 : 392-398, 1981.

55) Fish, J.E., Newball, H.H., Norma, P.S. and Peterman, V.E. : Novel effects of $PGF_{2\alpha}$ in airway function in asthmatic subjects. *J. Appl. Physiol.*, 54 : 105-122, 1983.

56) Hardy, C.C., Robinson, C., Tattersfield, A.E. and Holgate, S.T. : The bronchoconstrictor effect of effect of inhaled prostaglandin D_2 in normal and asthmatic man. *N. Engl. J. Med.*, 311 : 209-213, 1984.

57) Beasley, R., Featherstone, R., Church, M., Rafferty, P., Farley, J., Harris, A., Robinson, C. and Holgate, S.T. : Receptor antagonism of bronchoconstrictor prostanoids in vitro and in vivo by GR32191 : implication for the contribution of these mediators to immediate allergen-induced bronchoconstriction in asthma. *J. Appl. Physiol.*

58) Chung, K.F., Aizawa, H., Leikauf, G.D., Ueki, I.F., Evans, T.W. and Nadel, J.A. : Airway hyperresponsiveness induced by platelet-activating factor : role of thromboxane generation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 236 : 580-584, 1986.

59) Chung, K.F., Aizawa, H., Becker, A.B., Frick, O., Gold, W.M. and Nadel, J.A. : Inhibition of antigen-induced airway hyperresponsiveness by a thromboxane synthetase inhibitor (OKY-046) in allergic dogs. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 134 : 258-261, 1986.

60) Aizawa, H., Chung, K.F., Leikauf, G.D., Ueki, I., Bethel, R.A., O'Byrne, P.M., Hirose, T. and Nadel, J.A. : Significance of thromboxane generation in ozon-induced airway hyperresponsiveness in dogs. *J. Appl. Physiol.*, 59 : 1936-1940, 1986.

61) Herxheimer, H. and Roetscher, I. : Effects of prostaglandin E₁ on lung function in bronchial asthma. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 3 : 123-125, 1971.

62) Bianco, S., Robuschi, M., Cesarani, R., Ganfoldi, C. and Kamburoff, P. : Prevention of aspecifically induced bronchoconstriction by PGI₂ and 20-methyl-PGI₂ in asthmatic patients. *Pharm. Res. Commun.*, 10 : 657-675, 1978.

63) Hardy, C., Robinson, C., Bradding, P. and Holgate, S.T. : Prostacyclin : a functional antagonist of prostaglandin D₂-induced bronchoconstriction. *Thorax*, 39 : 696, 1984.

64) Heaton, R.W., Henderson, A.F., Dunlop, L.S. and Costello, J.F. : The influence of pretreatment with prostaglandin F₂ α on bronchial sensitivity to inhaled histamine and methacholine in normal subjects. *Br. J. Dis. Chest*, 78 : 168-174, 1984.

65) Fuller, R.W., Dixon, C.M.S., Dollery, C.T. and Barnes, P.J. : Prostaglandin D₂ potentiates airway responsiveness to histamine and methacholine. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133 : 252-254, 1986.

66) Chung, K.F., Evans, T.W., Graf, P.D. and Nadel, J.A. : Modulation of cholinergic neurotransmission in canine airways by thromboxane mimetic U 46619. *Eur. J. Pharmacol.*, 117 : 373-375, 1985.

67) Leff, A.R., Munoz, N.M., Tallet, J., Cavigelli, M. and David, A.C. : Augmentation of parasympathetic contraction in tracheal and bronchial airways by prostaglandin F₂ α in situ. *J. Appl. Physiol.*, 58 : 1558-1564, 1985.

68) Marom, Z., Shelhamer, J.H. and Kaliner, M. : The effects of arachidonic acid, monohydroxyeicosatetraenoic acid, and prostaglandins

on the release of mucus glycoproteins from human airways in vitro. *J. Clin. Invest.*, 67 : 1695-1703, 1981.

69) Lopez-Vidreiro, M.I., Das, I., Smith, A.P., Picot, R. and Reid, L. : Bronchial secretion from normal human airways after inhalation of prostaglandin F_{2a} , acetylcholine, histamine, and citric acid. *Thorax*, 32 : 734-739, 1977

70) Al-Bazzaz, F.J., Yadava, V.P. and Westenfelder, C. : Modification of Na and Cl transport in canine tracheal mucosa by prostaglandins. *Am. J. Physiol.*, 240 : F101-105, 1981.

71) Langridge-Smith, J.E., Rao, M.C. and Field, M. : Chloride and sodium transport across bovine tracheal epithelium : effects of secretagogues and indomethacin. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.*, 402 : 42-47, 1984.

72) Archer, C.B., Page, C.P., Juhlin, L., Morley, J. and McDonald, D.M. : Delayed-onset synergism between leukotriene B_4 and prostaglandin E_2 in human skin. *Prostaglandins*, 33 : 799-807, 1987.

73) Flower, R.J., Harvey, E.A. and Kingston, W.P. : Inflammatory effects of prostaglandin D_2 in rat and human skin. *Br. J. Pharmacol.*, 56 : 229-233, 1976.

74) Williams, T.J. : Prostaglandin E_2 , prostaglandin I_2 , and the vascular changes of inflammation. *Br. J. Pharmacol.*, 65 : 517-524, 1979.

75) Soter, N.A., Lewis, R.A., Corey, E.J. and Austen, K.F. : Local effects of synthetic leukotrienes (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4 , and LTB_4) in human skin. *J. Invest. Dermatol.*, 80 : 115-119, 1983.

76) Spagnello, P.J., Ellner J.J., Hassid, A. and Dunn, M.J. : Thromboxane A_2 mediates augmented polymorphonuclear leukocyte adhesiveness. *J. Clin. Invest.*, 66 : 406-414, 1980.

77) Marcus, A.J., Weksler, B.B., Jaffe, E.A. and Broekman, M.J. : Synthesis of prostacyclin from platelet derived endoperoxides by cultured human endothelial cells. *J. Clin. Invest.*, 66 : 979-986, 1980.

78) Smith, J.B., Silver, M.J., Ingerman, C.M. and Kocsis, J.J. :

Prostaglandin D₂ inhibits the aggregation of human platelets. *Throm. Res.*, 5 : 291-299, 1974.

79) Peters, S.P., Kagey-Sobotka, A., MacGlashan, D.W. and Lichtenstein, L.M. : Effect of prostaglandin D₂ in modulating histamine from human basophils. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 228 : 400-406, 1984.

80) Green, K., Hedqvist, P. and Svanborg, N. : Increased plasma levels of 15-keto-13,14-dihydro-prostaglandin F_{2α} after allergen-provoked asthma in man. *Lancet*, 1 : 1419-1421, 1974.

81) Okazaki, T., Johnson, T.F., Reisman, R.E., Arbesman, C.E. and Middleton, E. : Plasma prostaglandin concentration in allergic bronchial asthma. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 57 : 279-281, 1978.

82) Fish, J.E., Ankin, M.G., Adkinson, N.F.Jr. and Peterman, V.I. : Indomethacin modification of immediate-type immunologic airway responses in allergic asthmatic and nonasthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 123 : 609-614, 1981.

83) Szczeklik, A., Gryglewski, R.J. and Czerniawska-Mysik, G. : Relationship of inhibition of prostaglandin biosynthesis by analgesics to asthma attacks in aspirin-sensitive patients. *Br. Med. J.*, 1 : 67-69, 1975.

84) Ameisen, J.C., Capron, A., Joseph, M., Maclouf, J., Vorng, H., Pancre, V., Fournier, E., Wallaert, B. and Tonnel, A.B. : Aspirin-sensitive asthma : abnormal platelet response to drugs inducing asthmatic attacks ; diagnostic and physiopathological implications. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 77 : 107-114, 1985.

85) Shephard, E.G., Malon, L., Macfarlane, C.M., Mouton, W. and Joubert, J.R. : Lung function and plasma levels of thromboxane B₂, 6-keto-prostaglandin F_{1α}, beta-thromboglobulin in antigen-induced asthma before and after indomethacin pretreatment. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 19 : 459-470, 1985.

86) Kirby, J.G., Hargreave, F.E. and O'Byrne, P.M. : Indomethacin inhibits allergen-induced airway hyperresponsiveness but not

allergen-induced asthmatic responses. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135 : A312, 1987.

87) Hamberg, M., Hedqvist, P. and Radegran, K. : Identification of 15-hydroxy-5,8,11,13-eicosatetraenoic acid (15-HETE) as the major metabolite of arachidonic acid in human lung. *Acta Physiol. Scand.*, 110 : 219-221, 1980.

88) Rouzer, C.A., Matsumoto, T. and Samuelsson, B. : Single protein from human leukocytes possesses and leukotriene A synthase activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83 : 857-861, 1986.

89) Murphy, R.C., Hammarstrom, S. and Samuelsson, B. : Leukotriene C : a slow-reacting substance from murine mastocytoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76 : 4275-4279, 1979.

90) Orning, L. and Hammarstrom, S. : Inhibition of leukotriene C and leukotriene D biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, 255 : 8023-8026, 1980.

91) Parker, C.W., Falkenhein, S.F. and Huber, M.M. : Sequential conversion of the glutathionyl side chain of slow reacting substance (SRS) to cysteinyl-glycine and cystein in rat basophil leukemia cells stimulated with A23187. *Prostaglandins*, 20 : 863-866, 1980.

92) Lewis, R.A. and Austen, K.F. : The biologically active leukotrienes. *J. Clin. Invest.*, 73 : 889-897, 1984.

93) Henderson, W.R., Harley, J.B. and Fauci, A.S. : Arachidonic acid metabolism in normal and hypereosinophilic syndrome eosinophils : generation of leukotriene B₄, C₄, D₄, and 15-lipoxygenase products. *Immunology*, 51 : 679-686, 1984.

94) Fels, A.O.S., Pawlowski, N.A., Cramer, E.B., King, T.K.C., Cohn, Z.A. and Scott, W.A. : Human alveolar macrophages produce leukotriene B₄. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79 : 7866-7870, 1982.

95) Peters, S.P., Schleimer, R.P., Naclerio, R.M., MacGlashan, D.W., Togias, A.G., Proud, D., Freeland, H.S., Fox, C., Adkinson, N.F. and Lichtenstein, L.M. : The pathophysiology of human mast cells : in vitro

and in vivo function. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135 : 1196-1200, 1987.

96) Dahlen, S.E., Hansson, G., Hedqvist, P., Bjork, T., Granstrom, E. and Dahlen, B. : Allergen challenge of lung tissue from asthmatic elicits bronchial contraction that correlates with the release of leukotriene C₄, D₄ and E₄. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80 : 1712-1718, 1983.

97) Pawlowski, N.A., Kaplan, G. and Hamill, A.L. : Arachidonic acid metabolism by human monocytes : studies with platelet-depleted cultures. *J. Exp. Med.*, 158 : 593-598, 1983.

98) Hammarstrom, S., Bernstrom, K., Orning, L., Dahlen, S.E., Hedqvist, P., Smedegard, G. and Revenas, B. : Rapid in vivo metabolism of leukotriene C₃ in the monkey, *Macaca ivus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 101 : 1109-1115, 1981.

99) Orning, L., Kaijser, L. and Hammerstrom, S. : In vivo metabolism of leukotriene C₄ in man : urinary excretion of leukotriene E₄. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 130 : 214-217, 1985.

100) Shak, S. and Goldstein, I.M. : Omega-oxidation is the major pathway for the catabolism of leukotriene B₄ in human polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.*, 259 : 10181-10187, 1984.

101) Siegel, M.I., McConnell, R.T., Abrahams, S.L., Porter, N.A. and Cuatrecasas, P. : Regulation of arachidonate metabolism via lipoxygenase and cyclooxygenase by 12-HPETE, the product of human platelet lipoxygenase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 89 : 1273-1280, 1979.

102) Serhan, C.N., Hamberg, M. and Samuelsson, B. : Lipoxins, a novel series of compounds formed from arachidonic acid in human leukocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81 : 5335-5339, 1984.

103) Serhan, C.N., Hirsch, U., Palmblad, J. and Samuelsson, B. : Formation of lipoxin A by granulocytes from eosinophilic donors. *FEBS Lett*, 217 : 242-246, 1987.

104) Dahlen, S.E., Hedqvist, P., Hammerstrom, B. and Samuelsson, B. : Leukotrienes are potent constrictors of human bronchi. *Nature(Lond.)*,

288 : 484-486, 1980.

105) Samhoun, M.N. and Piper, P.J. : Comparative actions of leukotrienes in lung from various species. In *Leukotrienes and Other Lipoxygenase Products*, ed. by P.J. Piper, pp. 161-177, Wiley, New York, 1983.

106) Copas, J.L., Borgeat, P. and Gardiner, P.J. : The action of 5,12 and 15-HETE on tracheobronchial smooth muscle. *Prostagland. Leuk. Med.*, 8 : 105-114, 1982.

107) Barnes, N.C., Piper, P.J. and Costello, J.F. : Comparative effects of inhaled leukotriene C₄, leukotriene D₄ and histamine in normal human subjects. *Thorax*, 39 : 500-504, 1984.

108) Weiss, J.W., Drazen, J.M., Coles, N., McFadden, E.R., Weller, P.W., Corey, E.J., Lewis, R.A. and Austen, K.F. : Bronchoconstrictor effects of leukotriene C in humans. *Science(Wash. DC)*, 216 : 196-199, 1982.

109) Davidson, A.B., Lee, T.H., Scamon, P.D., Solway, J., McFadden, E.R., Ingram, R.H., Corey, E.J., Austen, K.F. and Drazen, J.M. : Bronchoconstrictor effects of leukotriene E₄ in normal and asthmatic subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135 : 333-337, 1987.

110) Adelroth, E., Morris, M.M., Hargreave, F.E. and O'Byrne, P.M. : Airway responsiveness to leukotrienes C₄ and D₄ and to methacholine in patients with asthma and normal controls. *N. Engl. J. Med.*, 315 : 480-484, 1986.

111) Marom, Z., Shelmamer, J.H., Bach, M.K., Morton, D.R. and Kaliner, M. : Slow reacting substances LTC₄ and D₄ increase the release of mucus from human airways in vitro. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 126 : 449-451, 1982.

112) Johnson, H.G. and McNee, M.L. : Secretagogue responses of leukotriene C₄, D₄ : comparison of potency in canine trachea in vivo. *Prostaglandins*, 25 : 237-243, 1983.

113) Leikauf, G.D., Ueki, I.F., Widdicombe, J.H. and Nadel, J.A. :

Alteration of chloride secretion across canine tracheal epithelium by lipoxygenase products of arachidonic acid. *J. Appl. Physiol.*, 250 : F47-53, 1986.

114) Wanner, A., Sielczak, M., Mella, J.F. and Abraham, W.M. : Ciliary responsiveness in allergic and nonallergic airways. *J. Appl. Physiol.*, 60 : 1967-1971, 1986.

115) Woodward, D.F., Weichman, B.M., Gill, C.A. and Wasserman, M.A. : The effect of synthetic leukotrienes on tracheal microvascular permeability. *Prostaglandins*, 25 : 131, 1983.

116) Dahlen, S.E., Bjork, J., Hedqvist, P., Arfors, K.E., Hammerstrom, S., Lindgren, J.A. and Samuelsson, B. : Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules : in vivo effects with relevance to the acute inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78 : 3887-3891, 1981.

117) Evans, T.W., Rogers, D.F., Aursudkij, B., Chung, K.F. and Barnes, P.J. : Role of mediators in increased airway vascular permeability induced by antigen. *Am. Rev. Respir. Dis.*, A135 : 135, 1987.

118) Peck, M.J., Piper, P.J. and Williams, T.J. : The effect of leukotrienes C₄ and D₄ on the microvasculature of guinea-pig skin. *Prostaglandins*, 21 : 315, 1981.

119) Camp, R.D.R., Coutts, A.A., Greaves, M.W., Kay, A.B. and Walport, M.J. : Responses of human skin to intradermal injection of leukotrienes C₄, D₄, and B₄. *Br. J. Pharmacol.*, 80 : 497-502, 1983.

120) Bray, M.A., Cunningham, F.M., Ford-Hutchinson, A.W. and Smith, M.J.H. : Leukotriene B₄ : a mediator of vascular permeability. *Br. J. Pharmacol.*, 72 : 483-486, 1981.

121) Ford-Hutchinson, A.W., Bray, M.A., Doig, M.V., Shipley, M.E. and Smith, M.J.H. : Leukotriene B₄, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes. *Nature(Lond.)*, 286 : 264-265, 1981.

122) Feinmark, S.J., Lindgren, J.A., Claesson, H.E., Malmsten, C. and Samuelsson, B. : Stimulation of human leukocyte degranulation by leukotriene B₄ and its omega-oxidized metabolites. *FEBS Lett*, 136 : 141-144, 1981.

123) Nagy, L., Lee, T.H., Goetzl, E.J., Pickett, W. and Kay, A.B. : Complement receptor enhancement and chemotaxis of human neutrophils and eosinophils by leukotrienes and other lipoxygenase products. *Clin. Exp. Immunol.*, 47 : 541-547, 1982.

124) Greese, B.R. and Back, M.K. : Hyperreactivity of airways smooth muscle produced in vitro by leukotrienes. *Prostagland. Leuk. med.*, 11 : 161-169, 1983.

125) Lee, T.H., Austen, K.F., Corey, E.J. and Drazen, J.M. : LTE₄-induced airway hyperresponsiveness of guinea-pig tracheal smooth muscle to histamine and evidence for 3 separate sulfidopeptide leukotriene receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81 : 4922-4925, 1984.

126) O'Byrne, P.M., Leikauf, G.D., Aizawa, H., Bethel, R.A., Ueki, I.F., Holtzman, M.J. and Nadel, J.A. : Leukotriene B₄ induces airway hyperresponsiveness in dogs. *J. Appl. Physiol.*, 59 : 1941-1946, 1985.

127) Barnes, N.C., Piper, P.J. and Costello, J.F. : Actions of inhaled leukotrienes and their interactions with other allergic mediators. *Prostaglandins*, 28 : 629-631, 1984.

128) Lee, T.H., Shore, S., Corey, E.J., Austen, K.F. and Drazen, J.M. : Leukotriene E₄-induced airway hyperresponsiveness to histamine. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 75 : 140, 1985.

129) Black, P.N., Fuller, R.W., Taylor, G.W., Barnes, P.J. and Dollery, C.T. : Bronchial reactivity is not increased after inhalation of leukotriene B₄ and Prostaglandin D₂. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 25 : 667, 1988.

130) Svensson, J., Strandberg, K., Tuvemo, T. and Hamberg, M. : Thromboxane A₂ ; effects on airway and vascular smooth muscle. *Prostaglandins*, 14 : 425-431, 1977.

- 131) Moreno, R.H., Hogg, J.C. and Pare, P.D. : Mechanics of airway narrowing. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133 : 1171-1180, 1986.
- 132) 塚越秀男、青木 栄、黒沢元博 : 血小板活性化因子静脈内投与によるモルモット気道反応性亢進に関する基礎的検討. *日胸疾会誌*, 28 : 1450-1455, 1990.
- 133) Nakai, H., Konno, M. and Kosuge, S. : New potent antagonists of leukotrienes C₄ and D₄. 1. Synthesis and structure-activity relationships. *J. Med. Chem.*, 31 : 84-91, 1988.
- 134) Nakahata, N., Sato, K., Abe, M.T. and Nakanishi, H. : ONO-NT-126 is a potent and selective thromboxane A₂ antagonist in human astrocytoma cells. *Eur. J. Pharmacol.*, 184 : 233-238, 1990.
- 135) Wakitani, K., Matsumoto, R., Imawaka, H., Kamanaka, Y., Naka, M., Hamanaka, N., Okegawa, T. and Kawasaki, A. : Anti-thrombotic effect of ONO-8809, a novel TXA₂/PG endoperoxide receptor antagonist. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.*, 21B : 599-602, 1991.
- 136) James, A.L., Pare, P.D. and Hogg, J.C. : The mechanics of airway narrowing in asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 139 : 242-246, 1989.
- 137) Fleming, W.W., McPhillips, J.J. and Westfall, D.P. : Post-junctional supersensitivity and subsensitivity of excitable tissues to drugs. *Ergeb. Physiol.*, 68 : 55-119, 1973.
- 138) Kalsner, S. : A new approach to the measurement and classification of forms of supersensitivity of autonomic effector responses. *Br. J. Pharmacol.*, 51 : 427-434, 1974.
- 138) Westfall, D.P. : Supersensitivity of smooth muscle. In : Bulbring, E., Brading, A.F., Jones, A.W. and Tomita, T. : *Smooth muscle : an assesment of current knowledge*. Austin : University of Texas Press : 285-309, 1981.
- 139) Benson, M.K. : Bronchial hyperreactivity. *Br. J. Dis. Chest*, 69 : 227-239, 1975.
- 140) James, A.L., Hogg, J.C., Dunn, L.A. and Pare, P.D. : The use of

assesment of current knowledge. Austin : University of Texas Press : 285-309, 1981.

139) Benson, M.K. : Bronchial hyperreactivity. *Br. J. Dis. Chest*, 69 : 227-239, 1975.

140) James, A.L., Hogg, J.C., Dunn, L.A. and Pare, P.D. : The use of internal perimeter to compare airway size and to calculate smooth muscle shortening. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138 : 136-139, 1988.

141) Woolcock, A.J., Salome, C.M. and Yan, K. : The shape of the dose-response curve to histamine in asthmatic and normal subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 130 : 71-75, 1984.

142) Drazen, J.M., Austen, K.F., Lewis, R.A., Clark, D.A., Goto, G., Marfat, A. and Corey, E.J. : Comparative airway and vascular activities of leukotrienes C₁ and D in vivo and in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77 : 4354-4358, 1980.

143) Piper, P.J., Samhoun, M.N. and Tippins, J.R. : Pharmacological studies on pure SRS-A and synthetic leukotrienes C₄ and D₄. In : Piper, P.J. ed. *SRS-A and Leukotrienes*. Letchworth : Research Studies Press : 81-99, 1981.

144) Pride, N.B. : Assesment of changes in airway calibre. 1. Tests of forced expiration. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 8 : 193-203, 1979.

145) Kern, R., Smith, L.J., Patterson, R., Krell, R.D. and Bernstein, P.R. : Characterization of airway response to inhaled leukotriene D₄ in normal subjects. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 133 : 1127-1132, 1986.

146) Weiss, E.B. and Bellino, J.R. : Leukotriene associated toxic oxygen metabolites induced airway hyperreactivity. *Chest*, 89 : 709-715, 1986.

147) Jongejan, R.C., DeJongste, J.C., Raatgeep, R.C., Stijnen, T., Bonta, I.L. and Kerrebijn, K.F. : Effects of inflammatory mediators on the responsiveness of isolated human airways to methacholine. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 142 : 1129-1132, 1990.

148) Svanborg, N., Hedqvist, P. and Green, K. : Aspects of

prostaglandin action in asthma. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.*, 1 : 439-447, 1976.

149) O'Byrne, P.M., Aizawa, H., Bethel, R.A., Chung, K.F., Nadel, J.A. and Holtzman, M.J. : Prostaglandin $F_{2\alpha}$ increases responsiveness of pulmonary airways in dogs. *Prostaglandins*, 28 : 537-543, 1984.

150) Featherstone R.L., Robinson, C., Holgate, S.T. and Church, M.K. : Evidence for thromboxane receptor mediated contraction of guinea-pig and human airways in vitro by prostaglandin (PG) D_2 , 9α , 11β -PGF₂ and PGF_{2 α} . *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 341 : 439-443, 1990.

151) Augsten, J., Farmer, J.B., Lee, T.B., Sheard, P. and Tattersall, M.L. : Selective inhibitor of slow reacting substance of anaphylaxis. *Nature (Lond.)*, 245 : 215-217, 1973.

152) Obata, T., Okada, Y. and Motoishi, M. : In vitro antagonism of ONO-1078, a newly developed anti-asthma agent, against peptide leukotrienes in isolated guinea pig tissues. *Japan J. Pharmacol.*, 60 : 227-237, 1992.

153) Adaikan, P.G., Lau, L.C., Kottegoda, S.R. and Ratnam, S.S. : Effects of two new leukotriene antagonists ONO-RS-347 and ONO-RS-411 (ONO-1078) on the guinea pig and human respiratory and other systems. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.*, 17 : 549-553, 1987.

154) Yamaguchi, T., Kohrogi, H., Honda, I., Kawano, O., Sugimoto, M., Araki, S. and Ando, M. : A novel leukotriene antagonist, ONO-1078, inhibits and reverses human bronchial contraction induced by leukotriene C₄ and D₄ and antigen in vitro. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 146 : 923-929, 1992.

155) Obata, T., Nambu, F., Kitagawa, T., Terashima, H., Toda, M., Okegawa, T. and Kawasaki, A. : ONO-1078 : An antagonist of leukotrienes. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.*, 17 : 540-543, 1987.

156) Rinkema, L.E., Bemis, K.G. and Fleisch, J.H. : Production and

antagonism of cutaneous vascular permeability in the guinea pig in response to histamine, leukotrienes and A23187. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 230 : 550-557, 1984.

157) Chang, N., Diamantis, W. and Sofia, R.D. : Antagonism of histamine and leukotrienes by azelastine in isolated guinea pig ileum. *Agents Actions*, 19 : 164-168, 1986.

158) Obata, T., Kobayashi, T., Okada, Y., Nakagawa, N., Terawaki, T. and Aishita, H. : Effect of a peptide leukotriene antagonist, ONO-1078 on antigen-induced airway microvascular leakage in activity sensitized guinea pigs. *Life Sci.*, 51 : 1577-1583, 1992.

159) Hay, D.W.P., Muccitelli, R.M., Tucker, S.S., Vickery-clark, L.M., Wilson, K.A., Gleason, J.G., Hall, R.F., Wasserman, M.A. and Torphy, T.J. : Pharmacologic profile of SK&F 104353 : a novel, potent and selective peptideleukotriene receptor antagonist in guinea pig and human airways. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 243 : 474-481, 1987.

160) Krell, R.D., Aharony, D. and Buckner, C.K. : The preclinical pharmacology of ICI 204219 : a peptide leukotriene antagonist. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141 : 978-987, 1990.

161) Fleisch, J.H., Rinkema, L.E., Haisch, K.D., Swanson-Bean, D., Goodson, T., Ho, P.P.K. and Marshall, W.S. : Ly 171883, 1-
< 2-hydroxy-3-propyl-4- < 4-(1H-tetrazol-5-yl)butoxy > phenyl >
ethanone, an orally active leukotriene D₄ antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 233 : 148-157, 1985.

162) Gardiner, P.J. and Collier, H.O.J. : Specific receptors for prostaglandins in airways. *Prostaglandins*, 19 : 819-841, 1980.

163) Kennedy, I., Coleman, R.A., Humphrey, R.P.A., Levy, G.P. and Lumley, P. : Studies on the characterisation of prostanoid receptors : a proposed classification. *Prostaglandins*, 24 : 667-689, 1982.

164) McKenniff, M., Rodger, I.W., Norman, P. and Gardiner, P.J. : Characterisation of the contractile prostanoid receptors in guinea pig and

human airways. *Eur. J. Pharmacol.*, 153 : 149-159, 1988.

165) Hamid-Bloomfield, S., Payne, A.N., Petrovic, A.A. and Whittle, B.J.R. : The role of prostanoid TP- and DP-receptors in the bronchoconstrictor effect of inhaled PGD₂ in anesthetized guinea-pigs : effect of the DP-antagonist BW A868C. *Br. J. Pharmacol.*, 100 : 761-766, 1990.

166) Arimura, A., Asanuma, F., Matsumoto, Y., Kurosawa, A., Jyoyama, H. and Nagai, H. : Effect of the selective thromboxane A₂ receptor antagonist, S-1452, on antigen-induced sustained bronchial hyperresponsiveness. *Eur. J. Pharmacol.*, 260 : 201-209, 1994.

167) Fujimura, M., Sakamoto, S., Saito, M., Miyake, Y. and Matsuda, T. : Effect of a thromboxane A₂ receptor antagonist (AA-2414) on bronchial hyperresponsiveness to methacholine in subjects with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 87 : 23-27, 1991.

168) Coleman, R.A., Humphrey, P.P.A., Kennedy, I. and Lumley, P. : Prostanoid receptors. The development of a working classification. *Trends Pharmacol. Sci.*, 5 : 303-306, 1984.

169) Featherstone, R.L., Robinson, C., Holgate, S.T. and Church, M.K. : Evidence for thromboxane receptor mediated contraction of guinea-pig and human airways in vitro by prostaglandin (PG) D₂, 9 α ,11 β -PGF₂ and PGF_{2 α} . *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.*, 341 : 439-443, 1990.

170) Fujimura, M., Bando, T., Mizuhashi, K. and Matsuda, T. : Interaction of thromboxane A₂ and leukotrienes in guinea pig airways in vivo. *Prostaglandins*, 42 : 379-389, 1991.

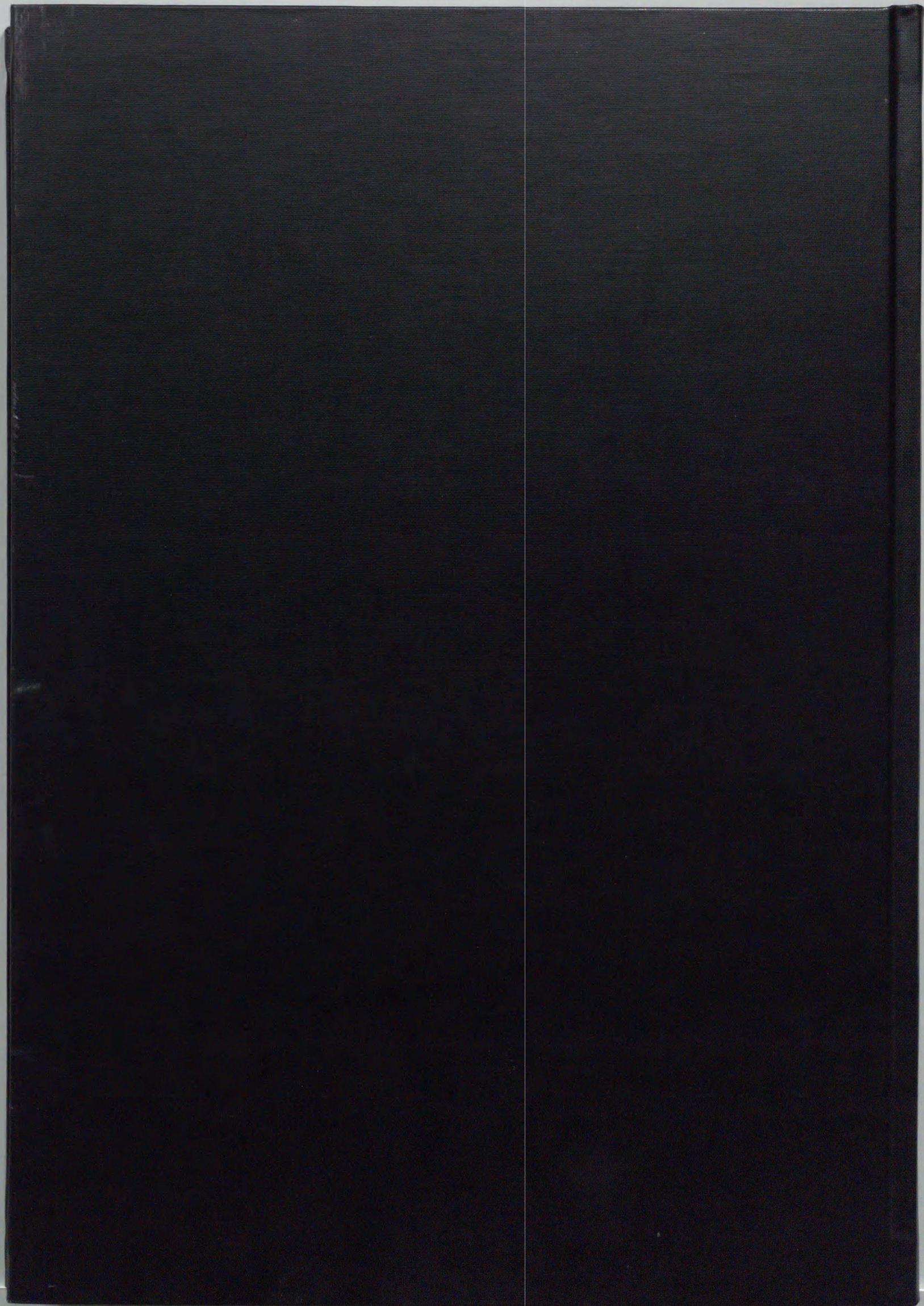
171) Muccitelli, R.M., Osborn, R.R. and Weichman, B.M. : Effect of inhibition of thromboxane production on the leukotriene D₄-mediated bronchoconstriction in the guinea pig. *Prostaglandins*, 26 : 197-206, 1983.

172) Vargaftig, B.B., Lefort, J. and Murphy, R.C. : Inhibition by aspirin of bronchoconstriction due to leukotriene C₄ and D₄ in guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.*, 72 : 417-424, 1981.

173) 塚越秀男、黒沢元博：トロンボキサンA₂静脈内投与によるモルモット気道反応性亢進に関する基礎的検討。日胸疾会誌、29：1532-1537、1991.

174) Kurosawa, M. and Tsukagoshi, H. : Inhibitory effect of a thromboxane A₂ synthetase inhibitor OKY-046 on bronchial hyperresponsiveness to histamine. *Pulm. Pharmacol.*, 6 : 247-253, 1993.

175) Munoz, N.M., Shioya, T., Murphy, T.M., Primack, S., Dame, C., Sands, M.F. and Leff, A.R. : Potentiation of vagal contractile response by thromboxane mimetic U-46619. *J. Appl. Physiol.*, 61 : 1173-1179, 1986.

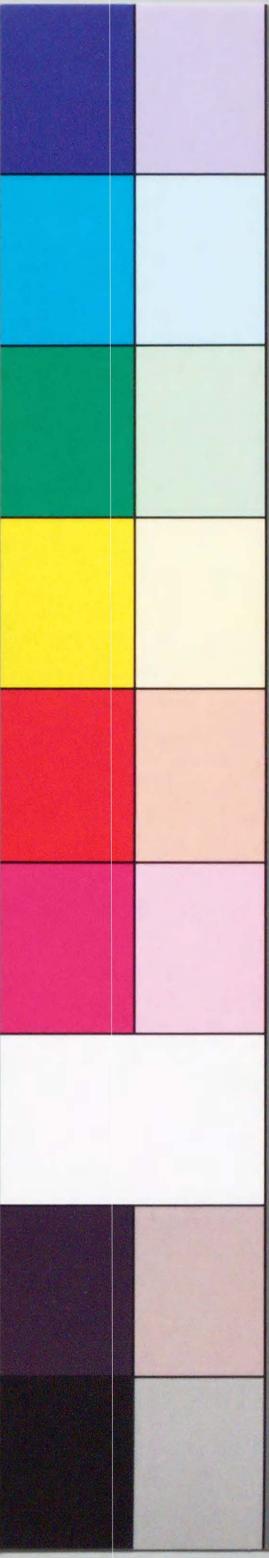


inches 1 2 3 4 5 6 7 8
cm 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19

Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM: Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM: Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

