

## 気管支喘息における血小板活性化因子 の役割に関する研究

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

辻 光 明

(平成5年11月15日受稿)

Key words: 気管支喘息, 血小板活性化因子, 好中球

### 緒 言

1972年 Benveniste ら<sup>1)</sup>は、ウサギの白血球を感作抗原で刺激すると、好塩基球などから遊離されるヒスタミン、ECF-A、ロイコトリエン類以外に、血小板を活性化しヒスタミン遊離を惹起する物質が反応上清中に存在することを見だし、血小板活性化因子 (Platelet activating factor; PAF) と命名した。その後、1979年に Demopoulos ら<sup>2)</sup>は、その化学構造が1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine であることを明らかにし、さらに合成 PAF を用いた詳細な検討が行われた。その結果、PAFは血小板活性化作用以外に、好中球活性化作用<sup>3)</sup>、血管透過性亢進作用<sup>4)</sup>、平滑筋収縮作用<sup>5)</sup>、血圧降下作用<sup>6)</sup>等多様な生理活性を有する事が判明し、アレルギー疾患のみならず、各種炎症性疾患の病態との関連性に多くの注目が集められている。とりわけ近年、気管支喘息の発症や重症化に際して、多種の炎症細胞が誘導するアレルギー性炎症反応という観点から、ヒスタミン、ロイコトリエン、ECF-A、NCF 以外の Chemical mediator として PAF の多様な生理活性作用の重要性が想定されている。

一方、好中球は喘息重症発作時の喀痰中や遅発型気道反応局所を反映する BALF 中に高率に出現し、様々な刺激に対してロイコトリエン B<sub>4</sub>、スーパーオキシドを放出してアレルギー性炎症反応を惹起させ、重症化要因として重要な役割を果たしていることが判明している<sup>7)-11)</sup>。さ

らに近年、好中球は PAF を産生する事が報告<sup>12)</sup>され、その生理活性作用と考えあわせると、前述の Chemical mediator に加えて喘息の発症や重症化に重要な役割を有する可能性が示唆される。そこで今回著者は喘息の発症病態を解明する研究の一環として、好中球由来の PAF の役割を明らかにするために、気管支喘息患者末梢血好中球の PAF 産生能について検討を行った。

### 対象と方法

#### 1. 対 象

対象には、岡山大学第2内科通院中の気管支喘息患者34例、健常人ボランティア11例を選んだ。喘息患者の背景因子としては、22歳から69歳までの男性11例、女性23例で、病型はアトピー型17例、非アトピー型17例であり、重症度は軽症5例、中等症16例、重症13例、うちステロイド依存性難治性喘息が7例であった。なお病型分類は、IgE RIST が300U/ml以上、吸入性抗原の IgE RAST score 及び即時型皮内反応が陽性の3項目中2項目以上を満たす症例をアトピー型、それ以外を非アトピー型とした。また重症度は日本アレルギー学会の重症度分類に従った。さらにステロイド依存性難治性喘息は、病型判定時以前の1年間以上、プレドニゾロン換算5mg/日以上以上のステロイド療法を要した症例とした。

#### 2. 方 法

ヒト末梢血より分離した好中球由来の PAF 活

性は、以下の如き方法に従い、ウサギ洗滌血小板を用いた血小板凝集能により定量した。

### 1) 細胞の調整

#### (1) ヒト末梢血好中球

好中球の分離法は、まず対象症例からヘパリン加採血した静脈血15mlをシリコン化試験管に移し、デキストラン2mlと混和後、室温にて30分間静置した。その上清を、等量のFicoll-conrayに重層し500Gにて25分間遠心分離した。そのPelletに蒸留水1mlを加えて溶血処理を行った後、Ca<sup>2+</sup>加Tyrode's-BSA (Ph 7.2) 溶液にて再浮遊させ、 $6 \times 10^6$  cells/mlに調整した。なお、この浮遊液中の好中球の純度は、平均95%以上であり、その他の混入細胞は好酸球(< 5.0%)、単球(< 1.0%)及び、好塩基球(< 0.5%)であった。

#### (2) ウサギ血小板

凝集反応に用いた血小板の分離は、まずウサギ耳静脈血よりポリプロピレンチューブにて採血し、10%量の3.8%クエン酸を加え、25℃にて500G、15分間遠心分離を行った。次いで、上清をFicoll-hypaqueに重層し、25℃にて750G、20分間遠心分離し、中間の血小板層を分取し、7mlのEGTA加Tyrode's-gelatin (Ph 6.5) 溶液を加えた後、Ficoll-hypaqueに重層して25℃にて750G、15分間遠心分離を行った。再度中間の血小板層を採取し、8mlのTyrode's-gelatin (Ph 6.5) 溶液にて洗滌後、同溶液にて最終濃度 $1.25 \times 10^9$  cells/mlに再調整し、それを血小板濃厚浮遊液とした。

### 2) 好中球に由来する PAF の抽出

末梢血好中球由来の PAF の産生には Ca ionophore A23187 (CaI) を用いて刺激を行った。すなわち、(1)で作成した好中球浮遊液1mlにCaI 5 $\mu$ lを加えて37℃にて5分間反応させた後、反応停止のため0.2mlの0.1M EDTA-2Naと0.02mlのFolmic acidを加えてBligh and Dyer<sup>13)</sup>の方法に従いPAFを抽出した。すなわち、反応液：メタノール：クロロホルムを0.8：2：1に混和し、室温にて30分間静置した後、さらに蒸留水とクロロホルムを蒸留水+反応液：メタノール：クロロホルムが0.9：1：1になる様に加えて混和した。次いで、クロロホルム層

を蒸発乾固させた後、0.25% BSA 加生理食塩水に溶解して、測定まで-20℃にて冷凍保存した。

### 3) PAF 活性の測定

ヒト好中球より抽出した PAF の活性は、ウサギ洗滌血小板を用いた血小板凝集能により測定した。すなわち、まず(2)で作成したウサギ洗

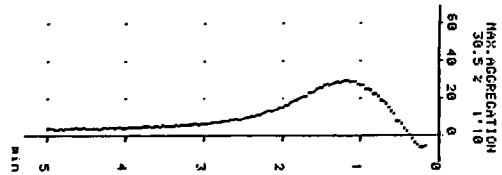


Fig. 1 Aggregometer を用いた末梢血好中球由来の PAF によるウサギ血小板凝集曲線

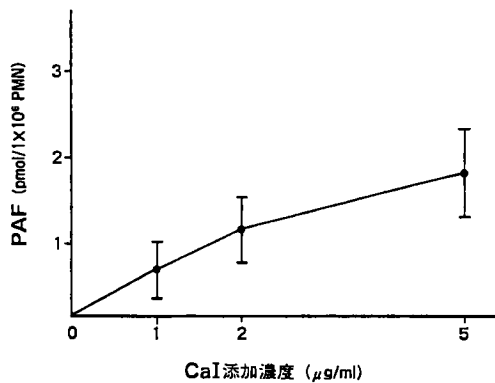


Fig. 2 末梢血好中球の PAF 産生能におよぼす CaI 至適添加濃度に関する検討

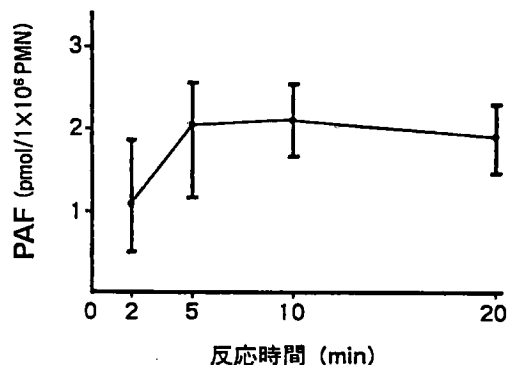


Fig. 3 末梢血好中球からの PAF 産生能の至適反応時間に関する検討

條血小板浮遊液50 $\mu$ lを、37 $^{\circ}$ CにてCa<sup>2+</sup>加Tyrode's-gelatin溶液200 $\mu$ lで最終濃度 $2.5 \times 10^8$ cells/mlの血小板浮遊液とした。次いでかかる浮遊液を、攪拌しながら2)でPAFを抽出した検体10 $\mu$ lを加え、Aggrecoeder(京都第1科学co. ltd. 社製)にてFig. 1の如き凝集曲線を描き、この曲線のピークを最大凝集率とした。ついで、あらかじめ求めておいた種々の濃度のC<sup>16</sup>-PAF標品による最大凝集率をもとに作成した標準直線から検体の最大凝集率に一致するPAF活性を算出した。また2)で作成した検体とC<sup>16</sup>-PAF標品による血小板凝集は、PAF受容体拮抗薬のCV3988による完全阻止が確認された。

4) 気道過敏性 (RT-Ach) の測定

気道過敏性は、アストグラフ(チェスト社製)を用いてメサコリン吸入試験法により測定した。

5) 推計学的有意差検定

PAF産生量の推計学的検討は student's T test を用い、P < 0.05以下を有意差ありとした。

結 果

末梢血好中球由来の PAF の産生には前述の

如くCaIを用いて刺激を行った。まず、CaIの添加濃度及び反応時間などの至適反応条件を決定した後、それに従って喘息患者と健常人及び喘息各種病態間につき検討を行ない以下の結果を得た。

1. 至適反応条件

好中球浮遊液に1 $\mu$ g/ml, 2 $\mu$ g/ml, 5 $\mu$ g/mlのCaIを37 $^{\circ}$ Cにて5分間反応させてPAF産生量を測定したところ、用量依存性にその産生能が増加した(Fig. 2)。

次いで反応時間の検討では、好中球浮遊液に5 $\mu$ g/mlのCaIを添加し、2分間から20分間まで各反応時間でのPAF産生能を測定した。その結果、CaI添加後PAF産生量は次第に増加し5分後には平衡に達した(Fig. 3)。

従って、至適反応条件としては、CaI添加濃度5 $\mu$ g/ml, 反応時間5分間とし、以下の検討を行った。

2. 末梢血好中球由来の PAF 産生能の検討

気管支喘息患者34例、健常人11例につき、好中球由来のPAF産生量を検討した。その結果、Fig. 4に示す如く健常人の $4.1 \pm 3.2$ pmol/1 $\times 10^6$ cellsに対し、気管支喘息患者では $8.3 \pm 6.9$ pmol/1 $\times 10^6$ cellsと、推計学的に有意なPAF産生量の亢進が認められた(P < 0.05)。

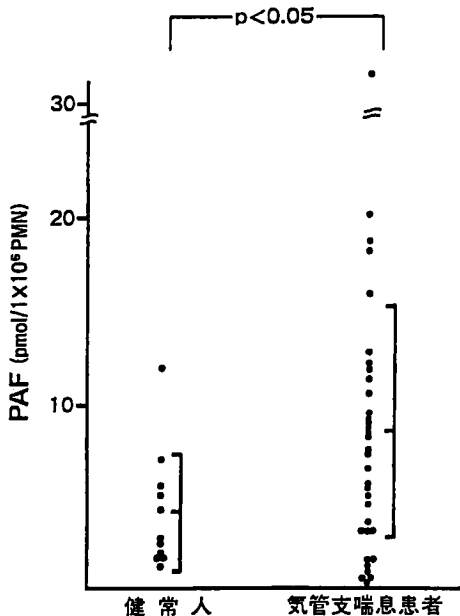


Fig. 4 気管支喘息患者及び健常人の末梢血好中球からのPAF産生能に関する検討

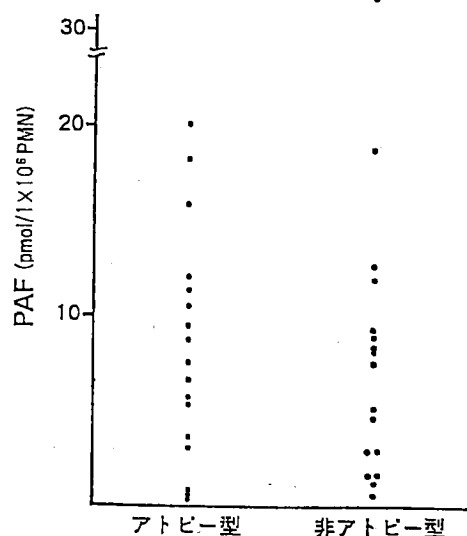


Fig. 5 気管支喘息患者の病型別にみた末梢血好中球からのPAF産生能に関する検討

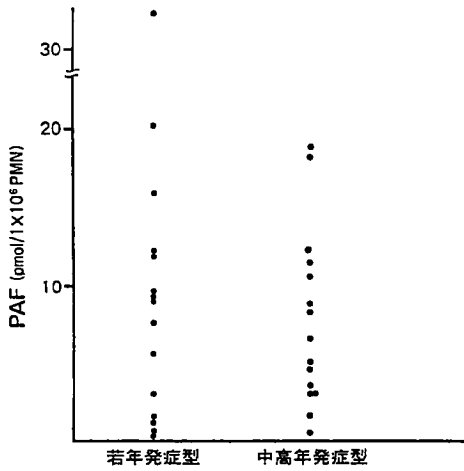


Fig. 6 気管支喘息患者の発症年齢別にみた末梢血好中球からの PAF 産生能に関する検討

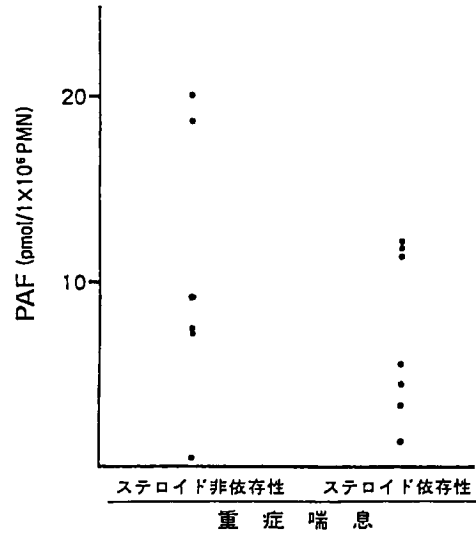


Fig. 8 重症喘息患者におけるステロイド依存性の有無による末梢血好中球からの PAF 産生能に関する検討

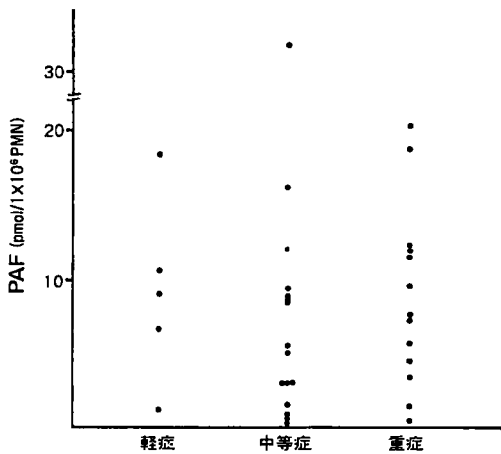


Fig. 7 気管支喘息患者の重症度別にみた末梢血好中球からの PAF 産生能に関する検討

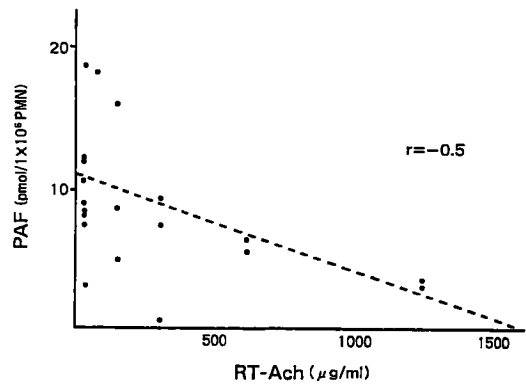


Fig. 9 末梢血好中球の PAF 産生能と気道過敏性との相関

### 3. 気管支喘息の各病態間での検討

気管支喘息患者末梢血好中球由来の PAF 産生能が健常人に比して有意に亢進していたことから、喘息を各病態すなわち病型別、発症年齢別、重症度別さらにはステロイド依存性の有無に分類してそれぞれにつき検討を行なった。また、喘息の重要かつ必須の要因である気道過敏性と PAF 産生能の関連性についても検討した。

#### 1) 病型別

気管支喘息患者をアトピー型と非アトピー型に分けて、その好中球からの PAF 産生能の検

討を行ったが、Fig. 5 の如く両群間に一定の傾向は認められなかった。

#### 2) 発症年齢別

次に、発症年齢別の検討としてまず年齢層別に比較したが、一定の相関は認められなかった。そこで、40歳未満に発症した若年発症型と40歳以降の中高年発症型の2群に分類して検討した。その結果、Fig. 6 の如く若年発症型の一部に亢進例が認められたが、発症年齢の相違による PAF 産生量には、推計学的な有意差は認められなかった。

### 3) 重症度別

重症化の一要因と考えられる好中球と PAF の関与を検討する目的で、気管支喘息を軽症、中等症、重症の3群に分類し、同様の比較を行なったが、Fig. 7 の如く明らかな差異は認められなかった。

### 4) ステロイド依存性の有無

重症群をさらに、ステロイド依存性か否かの2群に分けて検討を行なったところ、Fig. 8 に示す如く症例が少なく両群間に推計学的な有意差は認められなかったが、ステロイド依存群に比し非依存群の方が PAF 産生能が亢進する傾向があり、長期間治療に用いられているステロイド剤の影響が示唆された。

### 5) 気道過敏性と PAF 産生能の関係

近年、喘息発症及び重症化の一要因として気道過敏性の亢進が想定されていることから、今回検討した喘息患者20例を対象に気道過敏性と PAF 産生能などの関連性について検討した。その結果、気道過敏性は重症度と相関しなかったが PAF 産生能との間には  $-0.5$  の負の相関が認められた。すなわち、PAF 産生能が高い症例ほど気道過敏性が亢進していることが判明した (Fig. 9)。

## 考 察

近年、気管支喘息の発症機序は、各種炎症細胞が関与するアレルギー性炎症という概念で論じられている<sup>14)-17)</sup>。かかる点に関して、教室の一連の研究<sup>7)-11)</sup>では、喘息患者の特に発作後の喀痰中並びに、ヒト及びモルモットの BALF 中に好中球が高頻度に出現することから、好中球が産生するロイコトリエン類、 $O_2^-$ などの炎症惹起性化学伝達物質が、喘息の病態に関与していることが想定されている。

そこで著者は、かかる好中球の PAF 産生能に着目し、ヒト末梢血好中球由来の PAF を測定したところ、喘息患者好中球は健康人に比して有意に高い PAF 産生能を有し、しかも気道過敏性の亢進と相関することが今回明らかとなった。しかし、喘息の各種病態と PAF の相関は明確にしえず、喘息の発症要因の多様性が窺われた。

近年 PAF は、アレルギー、炎症等様々な病態に際して、重要な役割を果たす化学伝達物質として重要視されており、特に気管支喘息の発症病態との関連性が想定されている。今回得られた成績は、正にその可能性を示唆するものと考えられる。かかる PAF はロイコトリエン類、プロスタグランディン類とともに脂質メディエーターの1つであり、ヒスタミンが好塩基球・肥満細胞系のみならず局在しているのに比べ、アレルギー、炎症に関連した種々多様な細胞から産生遊離され、かつ多彩な生理活性作用を有することが知られている。

PAF の産生は、好中球<sup>12)</sup>、肥満細胞<sup>18)</sup>、好塩基球<sup>19)</sup>、好酸球<sup>20)</sup>、単球<sup>20)</sup>、肺胞マクロファージ<sup>21)</sup>、腹腔マクロファージ<sup>22)</sup>、血小板<sup>19)</sup>、リンパ球<sup>23)</sup>等の炎症細胞、および血管内皮細胞<sup>24)</sup>、腎臓糸球体<sup>25)</sup>等に見られる。このうち、好塩基球・肥満細胞系、マクロファージは細胞表面の IgE 受容体を介して、特異抗原や IgE 抗体の刺激により PAF を産生する事が報告されている<sup>26)27)</sup>。

PAF は、一般に前述の産生細胞に多く含まれているアルキルアシルグリセロフォスフォコリンが、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub> で分解されリゾ PAF となり、さらにアセチル CoA が作用して合成される。また他の PAF 合成経路として Snyder<sup>28)</sup> らによって報告されたコリントランスフェラーゼを介した経路が想定される。そのような経路で産生された PAF の大部分は細胞内に貯蔵され、細胞より遊離されるものは約 10~20% 程度と推察されている。しかし、PAF は極めて低濃度でも強い生理活性を有しているため、少量の遊離 PAF でも大きな臨床的意義を有するものと思われる。PAF の生理作用については、1972 年に Benveniste らにより血小板活性化作用が報告されて以来多くの研究が行われ、血小板活性化作用ばかりではなく好中球活性化作用<sup>3)</sup>、好酸球活性化作用<sup>29)</sup>、単球活性化作用<sup>30)</sup>、血管透過性亢進作用<sup>4)</sup>、血圧低下作用<sup>6)</sup>、平滑筋収縮作用<sup>5)</sup>、肺実質収縮作用<sup>31)</sup>、気道反応性亢進作用<sup>32)</sup>、等数多くの生理活性が報告されている。

一方、気管支喘息の基本病態の特徴として、生理学的には気道反応性の亢進が、また病理学的には気道粘膜の炎症細胞浸潤、血管透過性亢

進、浮腫、気管支平滑筋収縮等が挙げられるが、PAFは前述の生理活性により、これらほとんどの病態を作り出すことが可能である。成人喘息のうち、特に木村<sup>33)</sup>により提唱された中高年発症型難治性喘息(Late onset intractable asthma)は、若年発症のアトピー型喘息とは基本的に発症機序が異なり、抗原はハウスダストよりもカンジダ<sup>34)</sup><sup>35)</sup>、抗体はIgEよりもIgG<sup>36)</sup><sup>37)</sup><sup>38)</sup>、標的細胞としては好塩基球・肥満細胞系のみならず、好中球、好酸球や、さらには、リンパ球、マクロファージ<sup>39)</sup><sup>40)</sup>などの多彩な炎症細胞が関与し、木村の提唱するいわゆる細胞反応型アレルギー<sup>15)</sup>が基盤となっている。以上のことより、今回著者は、気管支喘息患者末梢血好中球から産生されるPAFについて検討したところ、健康人に比べて有意に高い産生能を有していたことから、気管支喘息の発症や重症化にPAFが何らかの役割を果たしているものと考えられた。先に述べた如く、PAFは合成されてもその一部しか細胞外に遊離しないことが知られており、また細胞内にとどまっているPAFの生理学的役割についても解明されていない点が多い。さらにその喘息病態との係わりを解明するために、気管支喘息を重症度別に分類して比較したが、好中球自体の持つPAF産生能に差異は認められなかった。しかし、重症難治性喘息では、BALF中に好中球が増加することは既に報告されており、様々な刺激による喘息発作時に、肺局所で産生される好中球由来のPAFの総量は、重症難治性喘息で多いことが推察される。PAFは好中球や好酸球の強い遊走活性因子であり、局所で産生されたPAFがそれらの細胞を局所に集積させ、さらにPAFの産生を惹起させる悪循環を形成することが考えられる。また好中球のPAF産生に与えるステロイドの影響も考慮されなくてはならない。この研究において、ステロイド非依存群の方が依存群に比較して高いPAF産生能を有する傾向にあったことは、PAFが細胞膜のリン脂質由来であり、その細胞膜アラキドン酸代謝の抑制作用を有するステロイド剤が奏功したためとも考えられた。

次に、気管支喘息病態においては、気道過敏性の亢進は重要な必須の要因である。Pageら<sup>41)</sup>

はモルモットにPAFを吸入させ気道過敏性の亢進を認めており、またBarnsら<sup>32)</sup>は、PAFが持続性の気道過敏性を惹起するという報告を行っている。一方、一過性の気道過敏性の亢進は、非特異的刺激による気道炎症によっても引き起こされることが知られており、小林ら<sup>42)</sup>はオゾン吸入後の気道過敏性の亢進はTXA<sub>2</sub>が関与していることを報告している。また、佐藤ら<sup>43)</sup>はPAF受容体拮抗薬であるCV3988の投与により、オゾン吸入後の気道過敏性の亢進とTXA<sub>2</sub>の上昇が抑制されたことより、オゾン吸入後の気道過敏性亢進においてPAFを介した気道への好中球浸潤と、かかる好中球から産生されるTXA<sub>2</sub>の作用が重要であると報告している。また山田ら<sup>44)</sup>、Coyleら<sup>45)</sup>の報告は、PAF吸入による気道過敏性の亢進には、前期と後期の2相性があることを示している。今回の著者の検討において、好中球のPAF産生能と気道過敏性との間に負の相関傾向がみられたが、この気道過敏性の亢進におよぼすPAFの影響の詳細は明らかではない。しかし、PAFによって気道粘膜の浮腫や気道狭窄が引き起こされ、さらに好中球浸潤によるTXA<sub>2</sub>の上昇、好酸球浸潤とその脱顆粒による組織傷害性蛋白であるmajor basic protein (MBP)、eosinophilic cationic protein (ECP)などの放出によって惹起される気道上皮の障害、irritant receptorやC-fiber-endingの露出等の様々な要因により形成される可能性が示唆され、喘息病態を解明する上で、今後さらに他の化学物質との相互作用という観点から検討する必要があるものと考えられる。

## 結 論

気管支喘息の発症要因の1つと考えられるPAFの関与を明らかにする目的で喘息患者末梢血好中球からのCa ionophore A23187刺激によるPAF産生能を検討した。

1. 気管支喘息患者では健康人に比して、好中球のPAF産生能が有意に亢進することが判明した(P < 0.05)。
2. アトピー型と非アトピー型、重症度別、発症年齢別では、有意差は認められなかったが、ステロイド依存性難治群に比して、非依存群は

PAF 産生能が高い傾向であった。

3. PAF 産生能と気道過敏性の間には負の相関関係 ( $r = -0.5$ ) が認められた。

以上の結果より、喘息患者では、好中球からの PAF 産生能が亢進し、かつ気道過敏性亢進の要因となることが今回明らかにされた。すなわち、肺局所に遊出した好中球から産生される PAF が、多彩な生理活性作用を介して、気道過敏性亢進をはじめ種々の喘息の病態に重要な役

割を担っていることが想定された。本論文の主旨は第37回日本アレルギー学会総会において発表した(1987年10月8日)。

稿を終えるにあたり、ご指導御検閲を賜りました恩師木村郁郎教授に深謝いたしますと共に、終始懇親なる御指導、御助言を賜りました高橋 清講師に深謝致します。

## 文 献

- 1) Benveniste J, Henson PM and Cochrane CG: Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelet. The role of IgE, basophiles and a platelet activating factor. *J Exp Med* (1972) **136**, 1356—1377.
- 2) Demopoulos CA, Pinckard PN and Hanahan DJ: Platelet activating factor: Evidence for 1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-phosphorylcholine as the active components. *J Biol Chem* (1979) **254**, 9355—9358.
- 3) Shaw JO, Pinckard PN, Frignani KS, McManus LM and Hanahan DJ: Activation of human neutrophils with 1-0-hexadecyl/octadecyl-2-acetyl-3-phosphorylcholine (Platelet activating factor). *J Immunol* (1981) **124**, 1250—1255.
- 4) Evans TW, Chung KF, Rogers DF and Barns PJ: Effect of platelet activating factor on airway permeability: possible mechanism. *J Appl Physiol* (1987) **63**, 479—484.
- 5) Findlay SR, Lichtenstein LM, Hanahan DJ and Pinckard RM: Contraction of guinea pig ileal smooth muscle by acetyl glyceryl phosphorylcholine. *Am J Physiol* (1981) **241**, C130—C133.
- 6) Kasuya Y, Matsuda Y and Shigenobu K: Possible role of endothelium in the vasodilator response of rat thoracic aorta to platelet activating factor (PAF). *J Pharmacobio-Dyn* (1984) **7**, 138.
- 7) 木村郁郎: 遅発アレルギーの発症機序—細胞反応を中心として—; 第3回免疫薬理シンポジウム記録, 富岡 玖夫編, デーエムベージャパン, 東京 (1985) pp 23—40.
- 8) 高橋 清, 清水一紀, 難波一弘, 中山堅吾, 岡田千春, 辻 光明, 中藤研一, 多田慎也, 木村郁郎: 重症難治性喘息患者における末梢血好中球からのロイコトリエン産生能に関する検討. *アレルギー* (1988) **37**, 322—330.
- 9) 高橋 清, 磯島浩二, 沖 和彦, 難波一弘, 武田勝行, 菅野 尚, 宗田 良, 木村郁郎: 慢性通年性喘息モデルの作成とその機序について. 1. 遅発型気道反応発現モルモットを用いて; 気道過敏性研究の新展開, 滝島 任編, 文光堂, 東京 (1989) pp 223—237.
- 10) 難波一弘, 高橋 清, 多田慎也, 清水一紀, 中藤研一, 岡田千春, 辻 光明, 沖 和彦, 木村郁郎: House Dust による気管支喘息遅発型気道反応の発症機序に関する検討—気管支肺胞洗浄法を中心に—. *アレルギー* (1983) **37**, 67—74.
- 11) 清水一紀, 松岡 孝, 塩田雄太郎, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎, 周籐真康, 谷崎勝郎: 気管支喘息患者末梢血好中球の leukotrienes 及び superoxide 産生能の検討—重症難治性喘息との関連について. *アレルギー* (1984) **33**, 688.
- 12) Linch JM, Lotner GZ, Betz SJ and Henson PM: The release of a platelet activating factor by stimulated rabbit neutrophils. *J Immunol* (1979) **123**, 1219—1233.

- 13) Bligh EG and Dyer WJ : A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* (1959) **37**, 911.
- 14) 木村郁郎 : アレルギーと好塩基球・肥満細胞系. *アレルギー* (1985) **14**, 1-9.
- 15) 木村郁郎 : 気管支肺病変におけるアレルギーとリンパ球. *アレルギー* (1990) **19**, 12-16.
- 16) 木村郁郎 : 気管支喘息における気道洗浄液. *医学のあゆみ* (1982) **123**, 401-411.
- 17) 高橋 清 : 中年発症型難治性喘息の機序 ; 第 4 回免疫薬物療法研究会記録集, 医療ジャーナル社, 大阪 (1986) pp 110-130.
- 18) Mencia-Huerta JM, Lee CW, Lee TH, Razin E, Corey EJ, Lewis RA and Austin KF : Generation from a mast cell subclass by an IgE-dependent mechanism. *INSERM Symp* (1983) **23**, 101-107.
- 19) Linch JM and Henson PM : The intracellular retention of newly synthesized platelet activating factor. *J Immunol* (1986) **137**, 2653-2661.
- 20) Lee T, Lenihan DJ and Wasserman SI : Increased biosynthesis of platelet activating factor in activates human eosinophils. *J Biol Chem* (1984) **259**, 5526-5530.
- 21) Arnoux B, Duval D and Benveniste J : Release of platelet activating factor (PAF-acether) from alveolar macrophage by calcium ionophore A 23187 and phagocytosis. *Eur J Clin Invest* (1980) **10**, 437-441.
- 22) Roubin R, Dulioust A, Haye-Legrand I, Ninio E and Benveniste J : Biosynthesis of PAF-acether : VIII : Impairment of PAF-acether production in activated macrophages dose not depend upon acetyl-transferase activity. *J Immunol* (1986) **136**, 1767-1802.
- 23) Malavashi F, Tetta C, Funaro A, Bellone G and Ferrone G : Fc receptor triggering induces expression of surface activation antigens and release of platelet activating factor in large granular lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* (1986) **83**, 2443-2447.
- 24) Camussi G, Aglietta M, Malavashi F, Lino FB, Piacibello W, Sanavio F and Tetta C : Release of platelet activating factor from human endothelial cells. *INSERM Symp* (1983) **23**, 83-91.
- 25) Camussi G : Potential role platelet-activating factor in renal pathophysiology. *Kidney Int* (1986) **29**, 469-477.
- 26) Schleimer RP, Macglashan DW, Perers SP, Pinckard RN, Adkinson NF Jr and Lichtenstein LM : Characterization of inflammatory mediator release from purified human lung mast cells. *Am Rev Respir Dis* (1986) **133**, 614-617.
- 27) Maridonneau-Parini I, Lagente V, Lefort J, Randon J, Russo-Marie F and Vergaftig BB : Desensitization to PAF-induced bronchoconstriction and to activation of alveolar macrophages by repeated inhalations of PAF in the guinea pig. *Biochem Biophys Res Commun* (1985) **131**, 42-49.
- 28) Renooij W and Snyder F : Biosynthesis of 1-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (platelet activating factor and a hypotensive lipid) by cholinephosphotransferase in various rat tissues. *Biochim Biophys Acta* (1981) **663**, 545-556.
- 29) Wardlaw AW, Moqbel R, Cromwell O and Kay AB : Platelet activating factor : A potent chemotactic chemokinetic factor for human eosinophils. *J Clin Invest* (1986) **78**, 1701-1706.
- 30) Yasaka T, Boxer LA and Baehner RL : Monocyte aggregation and superoxide anion release in response to formil-metionyl-leucyl-phenylalanin (fMLP) and platelet activating factor. *J Immunol* (1982) **128**, 1939-1944.
- 31) Norma P and Stimular G : Parasympathetic stimulation as a mechanism for platelet activating factor induced contractile responses in the lung. *J Pharmacol Exp Ther* (1986) **237**, 209-213.
- 32) Cuss FM, Dixon CM and Barns PJ : Effect of inhaled platelet activating factor on pulmonary



- function and bronchial responsiveness in man. *Lancet* (1986) **2**, 189-192.
- 33) 木村郁郎：喘息の病型とその本質論—中高年発症型難治性喘息の独立性。日胸疾会誌 (1983) **21**, 181-182.
  - 34) 木村郁郎, 高橋 清：老人喘息とその対策。現代医療 (1985) **17**, 2308-2312.
  - 35) 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋 清, 多田慎也, 駒越春樹, 周藤真康, 貴谷 光, 中山堅吾：気管支喘息におけるカンジダ抗原の特徴—統計学的観察。日胸疾会誌 (1986) **24**, 150-155.
  - 36) 松岡 孝：気管支喘息患者好塩基球の免疫グロブリンレセプターと IgE 抗体の作用機序に関する研究。第 1 編 重症難治性喘息における IgE の役割に関する検討。岡山医誌 (1986) **98**, 525-535.
  - 37) 岡田千春, 高橋 清, 宗田 良, 松岡 孝, 難波一弘, 荒木洋行, 岸本卓巳, 木村郁郎：遅発型気道反応における好塩基球表面結合免疫グロブリンレセプターの検討—IgE レセプターの関与を中心に。アレルギー (1988) **37**, 5-11.
  - 38) 小栗栖和郎, 難波康夫, 猪木篤弘, 高田 穰, 磯島浩二, 難波一弘, 宗田 良, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎：末梢血好中球患者における抗原特異的 IgG サブクラスに関する検討。日胸疾会誌 (1989) **27**, 393.
  - 39) 宮川秀文：重症難治性喘息における IV 型アレルギーの関与について—カンジダ抗原による IL-2 産生能と好中球遊走活性—。アレルギー (1988) **37**, 12-18.
  - 40) 多田慎也：局所リンパ球。喘息 (1989) **2**, 53-58.
  - 41) Page CP, Paul W and Morley J: Platelets and bronchospasm. *Int Arch Allergy Appl Immunol* (1984) **74**, 347-350.
  - 42) 小林秀樹, 足立 満, 佐藤 仁, 岡田陽子, 高橋昭三, 山口 裕：選択的 Thromboxane A<sub>2</sub> synthetase inhibitor (OKY-046) の ozone 吸入後気道過敏性に対する影響。アレルギー (1985) **34**, 469-473.
  - 43) 佐藤 仁, 足立 満, 今井俊道, 岡沢 明, 神谷勤子, 西方 光, 小林秀樹, 高橋昭三：Ozone 吸入後の気道反応性亢進に対する PAF 特異的拮抗剤の影響。アレルギー (1987) **36**, 14-20.
  - 44) 山田吾郎, 牧野莊平：気管支喘息における PAF の役割。第 9 回炎症学会記録集 (1988) pp 87.
  - 45) Coyle AJ, Urwin SC, Page CP, Touvy CT, Villain B and Braquet P: The effect of the selective PAF antagonist BN 52021 on PAF and antigen induced bronchial hypersensitivity and eosinophil accumulation. *Eur J Pharmacol* (1988) **148**, 51-58.

**The production of platelet activating factor (PAF) from neutrophils  
in bronchial asthmatics**

**Mitsuaki TSUJI**

**Second Department of Internal Medicine,**

**Okayama University Medical School,**

**Okayama 700, Japan**

**(Director : Prof. I. Kimura)**

It was recently suggested that chemical mediators such as leukotrienes and PAF are more important in the pathogenesis of bronchial asthma than histamine. In this study, to clarify the role of PAF in bronchial asthma, I measured PAF activity derived from human neutrophils by the platelet aggregation technique and evaluated this activity in relation to the clinical features of bronchial asthma.

Neutrophils were separated from heparinized venous blood of 34 bronchial asthmatics and 11 healthy subjects. After suspension at  $6 \times 10^6$  cells/ml, the cells were treated with  $5 \mu\text{g/ml}$  Ca ionophore A23187 for 5 minutes. PAF was extracted from the cell suspension using chloroform, and the activity was measured with an aggregometer using rabbit platelets.

PAF activity was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in asthmatics ( $8.3 \pm 6.9$  pmol/ $1 \times 10^6$  cells) than in healthy subjects ( $4.1 \pm 3.2$  pmol/ $1 \times 10^6$  cells), and tended to increase in steroid-independent asthmatics rather than in steroid-dependent asthma patients.

However, there was no difference in PAF production between atopic and non-atopic asthmatics, or between the early and late onset asthmatics. PAF production was increased in patients with severe airway hypersensitivity.

These findings suggest that PAF plays an important role in the development and exacerbation of asthma.