鼻アレルギーにおける鼻腔洗浄液中の
血小板活性化因子 (PAF) の検出
花粉症患者および実験的鼻アレルギーモデルにおける検討

札幌医科大学耳鼻咽喉科学教室 (主任: 形浦昭克教授)

白 崎 英 明, 朝 倉 光 司

DETECTION OF PLATELET-ACTIVATING FACTOR IN NASAL LAVAGE FLUID
FROM PATIENTS WITH POLLINOSIS
AND EXPERIMENTAL ANIMALS WITH NASAL ALLERGY

HIDEAKI SHIRASAKI, M.D. and KOHJI ASAKURA, M.D.

Department of Otolaryngology, Sapporo Medical College, Sapporo

Platelet-activating factor (PAF) is released in vitro by the reaction of antigen and IgE antibody on basophilic cells. In order to clarify that PAF was released in vivo during nasal allergic response, we measured PAF activities in nasal lavage fluids from both 10 patients with pollinosis and ovalbumine (OA)-sensitized guinea pigs before and after topical antigenic challenge. PAF activities were measured by their aggregating ability of washed rabbit platelets. The levels of lyso-PAF were determined after acetylation of lyso-form into the biologically active form of PAF. PAF or Lyso-PAF activities were detected in the nasal lavage fluids soon after the topical antigenic challenge in 7 patients. They were also found during late phase of between 3 and 8 hours after the challenge in 8 patients. In sensitized animals, PAF activities in the nasal lavage fluids significantly increased soon after topical antigenic stimulations. These data suggested that PAF was released during both early and late-phase nasal allergic reactions and might account for pathogenesis of allergic rhinitis.

Key words: PAF, Lyso-PAF, 鼻腔洗浄液, 花粉症, 感作モルモット

A 93—0420—32820

I 緒 言

血小板活性化因子 (PAF) は, 1972年 IgE 感作ウサギ好塩基球より抗原刺激により放出され, 血小板を活性化する因子として最初に報告され¹⁾, 1979年に至りその構造が決定された²⁾ 比較的新しいメディエーターである. PAF はその発見の端緒となった血小板活性化作用以外にもマクロファージ³⁾, 好酸球⁴⁾ および好中球⁵⁾ などを微量で活性化する作用を有し, また, 気管支収縮作用^{6,7)}, 血管透過性亢進作用⁸⁾ などの生理活性作用を有することよりアレルギー反応に関与していると

考えられている. PAF をめぐる研究が多方面で進展しているにもかかわらず, その測定に煩雑な分離操作を必要とするためか, アレルギー領域における生体局所からの PAF 検出に関する報告⁹⁾ は少ない.

本研究においては, PAF 測定法を確立し, さらに鼻アレルギーにおける抗原暴露後の鼻腔洗浄液中 PAF 活性の存在を鼻アレルギー患者および動物モデルにおいて確認し, さらに, その代謝産物あるいは前駆体の一部とされる Lyso-PAF についての検討も加えたので報告する.

II 実験方法

1. PAF および Lyso-PAF 測定法 (図 1)

(1) 試料中総脂質の抽出法

生体より採取された液は、Bligh and Dyer の方法¹⁰⁾に準じて行った。すなわち、試料にクロロホルムとメタノールを加え (クロロホルム/メタノール/水, 1/2/0.8), 常温で30分放置後, 1000×g15分遠心分離し除タンパクした。その上清に, 蒸留水とクロロホルムを加え (クロロホルム/メタノール/水, 1/1/0.9) 2層性にし, クロロホルム層を回収することにより総脂質を抽出した。

(2) カラムクロマトグラフィによる分離

カラムクロマトグラフィは、Pinckard らの方法¹¹⁾に準じて行った。まず、内径10mmのガラス管に SilicAR CC-4 (Mallinckrodt, USA) を2g 充填しカラムを作成した。次に、前記のクロロホルム層を注入し, クロロホルム 50ml, アセトン 50ml, アセトン/メタノール (1/1) 50ml, クロロホルム/メタノール (1/4) 50ml, クロロホルム/メタノール/水 (1/2/0.8) 50ml の順で溶出した。PAF および Lyso-PAF が溶出されるクロロホルム/メタノール (1/4) 分画を減圧下に乾固し, 回収した。

(3) 薄層クロマトグラフィ (TLC) による分離

TLC プレートシリカゲル 60F₂₅₄ (Merk, West Germany) に試料をスポットし, クロロホルム/メタノール/水 (65/35/6) にて15cm 展開した。風乾後1cm 四方に15等分し, PAF が存在する分画, Lyso-PAF が存在する分画をそれぞれかきとり, クロロホルム/メタノール/水 (1/2/0.8) 4ml にて抽出した。

(4) ウサギ洗浄血小板によるバイオアッセイ

PAF の測定は, ウサギ洗浄血小板の最大凝集率をもって行った。健康な体重3—4kg のウサギから心臓穿刺にて EDTA 採血 (終濃度 5mM) を行った。以下に述べる洗浄血小板の調整は室温にて行った。まず, 血液を 500×g にて15分間2回遠心分離することにより白血球の混入率1%以下の platelet rich plasma (PRP) を得た。PRP をゼラチン 2.5g/l と EDTA76mg/l を含む Tyrode 液 (pH6.5) 10ml により2回洗浄した後, ペレット (血小板) に CaCl₂・2H₂O 0.191g/l, indomethacin 2.5g/l, creatine phosphate 152.5mg/l および creatinine phosphate 312.5mg/l を含む Tris-buffered Tyrode 液 (pH7.2) を加え血小板数 5×10⁸/ml となるように調整した。次に血小板凝集計 AGGRETEC TE-500 (エルマ社製)

図1 PAF, Lyso-PAF の分離法

を用い, このようにして得られた洗浄血小板浮遊液 200μl に 0.25% ウシ血清アルブミンを含む生理的食塩水に溶解した試料 20μl を加え, 5分間凝集反応を記録し, 最大凝集率を測定した。なお, スタANDARDとしては, C₁₆-PAF (Bachem, Switzerland) を用いた。なお, Lyso-PAF は, 血小板凝集活性を有しないため, グリセロール骨格2位をアセチル化し PAF に変換することにより¹²⁾ 測定した。

2. ヒト鼻アレルギー患者における検討

(1) 実験対象および実験方法

季節性鼻アレルギー (花粉症) 患者10人を対象とし, 花粉非飛散期に行った。鼻腔洗浄は, 以下に述べるスケジュールにて行った。つまり鼻粘膜誘発施行前に, 1回鼻腔洗浄を行い, 10分後に対照ディスク (鳥居製薬) を両側下鼻甲介に置き10分後に再度鼻腔洗浄した。その10分後に, 抗原ディスクを両側下鼻甲介に置き, 鼻粘膜抗原誘発を施行した。抗原誘発10分後に抗原ディスクを除去し, 鼻腔洗浄を行った。以後, 抗原誘発30, 60, 90および120分後に鼻腔洗浄を行い, 120分以降は, 60分毎に480分後まで鼻腔洗浄した。

(2) 鼻腔洗浄液採取法

両側鼻汁を吸収し, あらかじめ秤量しておいた

500mMEDTA 0.1ml を入れたスピッツ内に回収し、その重量変化を求めることにより、鼻汁量を測定した。次に頭部を後屈させ37°Cに加温した生理的食塩水を一侧鼻腔につき2.5ml、計5mlを鼻腔内に注入した後、前屈させ前鼻孔よりの流出液をビーカー内に回収し、鼻汁を入れたスピッツ内に混和した。得られた採取液を1100×g、15分さらに40000×g、30分間遠心分離を行うことにより、細胞成分を完全に除去した。

3. 卵白アルブミン (OA) 能動感作モルモットにおける検討

(1) OA 感作モルモット作成法

雄の Hartley 系モルモット (体重 200—250g) を実験の対象とした。感作は当教室相馬らの方法¹³⁾ に準じて行った。抗原として OA を用い、感作第1日目に OA 10μg と propranolol 20mg/kg を腹腔内投与し、第14日目に同量をブースターとして腹腔内投与した。第21日目より鼻腔局所の感作として1mg/ml OA 吸入、3分間を連日4週間以上にわたり施行した。

(2) 鼻腔内灌流法

鼻腔内灌流は、以前我々が報告した方法¹⁴⁾ を用いた。感作モルモットを pentobarbital 30mg/kg により麻酔し、仰臥位固定、頸部正中切開施行し、気管切開部より鼻腔内にポリエチレンチューブ (内径約 1mm) を挿入した。ポリエチレンチューブの他端を灌流ポンプに接続し、37°Cに加温した生理的食塩水で20分間灌

流した後、1mg/ml の OA 生理的食塩水を3分間灌流後、再び生理的食塩水のみで灌流した。なお、灌流速度は、すべて 0.25ml/min で行った。鼻孔よりの流出液は、500mMEDTA、0.1ml を入れたチューブに氷水中にて10分間毎採取し PAF 測定用とした。

III 成績

1. PAF, Lyso-PAF 測定法の確立

(1) カラムクロマトグラフィによる分離

C₁₆-PAF, C₁₆-Lyso-PAF および ¹⁴C-C₁₆-PAF, ¹⁴C-C₁₆-Lyso-PAF をカラムに通したときの生物活性、放射性活性の溶出の結果を示す (図2)。なお Lyso-PAF はアセチル化した後の生物活性を示し、Lyso-PAF から PAF への変換率は89%であった。PAF の生物活性の80.0%、放射性活性の78.7%が、クロロホルム/メタノール (1/4) の分画に溶出された。同様に、Lyso-PAF についても、生物活性では89.8%が、放射性活性の79.9%が、クロロホルム/メタノール (1/4) の分画に溶出された。

(2) 薄層クロマトグラフィによる分離

PAF は、薄層クロマトグラフィにおいて、Rf0.23 であり、スフィンゴミエリン (Rf0.30) とリゾレシチン (Rf0.15) の間に位置し、Lyso-PAF は Rf0.15 であり、リゾレシチンとほぼ同じ移動度であった。PAF と Lyso-PAF および [¹⁴C] 標識 PAF, [¹⁴C] 標識 Lyso

図2 カラムクロマトグラフィによる PAF, Lyso-PAF の分離

図3 薄層クロマトグラフィーによる PAF, Lyso-PAF の分離

-PAF を 15cm 展開したときの、生物活性 (Lyso-PAF は、アセチル化した後の活性) および放射性活性を示す (図 3)。PAF の生物活性、放射性活性は原点より 3～4cm にそれぞれ 88.9%, 89.5% あり、Lyso-PAF の生物活性、放射性活性は、原点より 2～3cm にそれぞれ 85.8%, 96.3% 認めたため、原点より 3～4cm の分画を PAF 測定用、2～3cm の分画を Lyso-PAF 測定用とし、それぞれ薄層プレートよりかきとった。なお、Bligh & Dyer, カラムクロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーを通しての回収率 (生物活性) は、PAF で 51.5%, Lyso-PAF で 40.9% であった。

2. ヒト鼻アレルギー患者における検討

対照ディスクでは鼻アレルギー症状を認めなかったが、抗原誘発により全例即時型の鼻アレルギー症状 (くしゃみ, 鼻汁, 鼻閉) を認めた。抗原誘発 10 分後までのくしゃみの平均は、18.4 回で 30 分以降はくしゃみを認めなかった。鼻汁については、抗原誘発 10 分後に平均 0.87g の鼻汁を認めたが、抗原誘発 3 時間以降は鼻汁は認めなかった。鼻閉については、抗原誘発 3 時間以降に鼻腔抵抗の増加を 4 例において認め、症例 1 および 3 において 3 時間後に、症例 2 において 6 時間後に、症例 10 において 7 時間後に認められたがいずれも一過性であった。

分離したヒト鼻アレルギー鼻腔洗浄液において図 4 に示される血小板凝集活性を認めた。この活性は、PAF 特異的拮抗剤である CV-3988 (武田製薬より供

CH.NO.	REAGENT	CONC.	MAX. AGGREGATION
1	SAMPLE		51.1%
2	SAMPLE + CV-3988	$3 \times 10^{-7} M$	44.1%
3	SAMPLE + CV-3988	$1 \times 10^{-6} M$	20.3%
4	SAMPLE + CV-3988	$3 \times 10^{-6} M$	8.8%

図4 ヒト鼻腔洗浄液中の PAF 活性および CV-3988 による抑制効果

与) の前処置により完全に抑制されることにより PAF によって惹起されたものであることが確認された。PAF あるいは Lyso-PAF が検出された 8 例の PAF, Lyso-PAF 濃度の経時的変化を示す (図 5)。症例 3 を除き抗原誘発前には検出されなかったが、7 例において抗原誘発早期 (抗原誘発 10 分または 30 分後) に PAF または Lyso-PAF が検出され、抗原誘発 3 時間以降においても、8 例において検出された。この遅

図5 花粉症患者における抗原誘発前後の PAF, Lyso-PAF 濃度の経時的変化。なお, 0.1nM 以下を非検出例とした。

相性の上昇は, 抗原誘発4時間後に6例において認められた。なお, くしゃみの回数, 鼻汁量および鼻腔抵抗と PAF, Lyso-PAF 濃度との間に明らかな相関を見いだせなかった。

3. 鼻アレルギー能動感作モルモットにおける PAF 放出に関する検討

抗原灌流直後の灌流液を分離した試料には, 図4と同様な血小板凝集活性を認めた。図6は, OA 感作モルモットにおける抗原の鼻腔内灌流前後の灌流液中 PAF 濃度(活性)の経時的変化を mean $\pm$ SD について示したものである。抗原灌流前は, 2.5 ± 1.6 pM であったが, OA 灌流直後(0~10分後)に最高濃度 (44.7 ± 18.8 pM, $p < 0.05$) に達する PAF 濃度の上昇が認められた。OA 灌流20分以降は, 前値との間に有意な上昇を認めなかった。

IV 考 察

PAF はその発見からの経緯からしてアレルギー反応に密接に関与していると考えられている。つまり, Barbaro ら¹⁵⁾ が抗原抗体反応により誘発される血小板からのヒスタミン放出が白血球に依存していることを報告し, 1972年に Benveniste ら¹⁾ はこの白血球依存性ヒスタミン放出が, IgE 感作好塩基球より遊離した血小板を活性化する可溶性因子により仲介されることを証明し, この因子を platelet-activating factor (PAF)

図6 OA 感作モルモットにおける抗原灌流前後の灌流液中 PAF 濃度の経時的変化

と命名したことにさかのぼる。その後, IgE を介する刺激以外によっても, 好中球¹⁶⁾, 好酸球⁵⁾, 血小板¹⁷⁾, マクロファージ¹²⁾¹⁸⁾, 血管内皮細胞¹⁹⁾ などより PAF が産生されることが明らかになるとともに, 血小板活性化作用以外にも好中球活性化作用⁴⁾, 好酸球活性化作用⁵⁾, 血管透過性亢進作用⁸⁾, 平滑筋収縮作用⁹⁾ などのさまざまな生理活性を有することが示された。アレルギー領域における PAF の研究においては, ヒトに PAF を吸入させると喘息と同様な症状を再現でき⁷⁾, 皮内注射すると抗原皮内注射と同様な皮膚反応を観察される²⁰⁾ のに加え, 近年開発されたさまざまな PAF 拮抗薬が動物モデル²¹⁾, およびアレルギー患

者²²⁾²³⁾におけるアレルギー反応の一部を抑制することが明らかになってきた。しかしながら、PAF がアレルギー疾患に関与していることを証明するには実際に局所アレルギー反応により産生・遊離されることを明らかにする必要があると思われる。花粉症患者における今回の研究では、抗原誘発前には 1 例おいてのみ PAF または Lyso-PAF が検出され、抗原誘発後早期に 7 例において検出されたことより、鼻アレルギーにおいて抗原刺激により PAF が局所で産生・遊離されることが明らかとなった。さらに、動物実験においても、抗原の鼻腔内投与により即時性に PAF が放出されることを確認した。今回用いた動物モデルでは、ヒト鼻アレルギーと同様な症状を有し、相馬ら¹³⁾によると血清 IgE 抗体価の上昇に加え、組織学的にもヒト鼻アレルギーと同様な所見がえられており、抗 IgE 抗体の鼻粘膜への注射により血管透過性の亢進が認められることから、この動物モデルは IgE 抗体で mediate されている鼻アレルギーモデルとして妥当なものと考えられるのに加え、アレルギー反応により局所で遊離されると考えられているヒスタミン、ロイコトリエンがこのモデルを用いた抗原鼻腔内灌流により鼻腔内に遊離される¹⁴⁾ことを考えると、鼻粘膜における IgE を介する抗原抗体反応により PAF が遊離されることは間違いないことであると考えられた。

PAF のヒト鼻粘膜に対する作用としては Pipkorn ら²⁴⁾は、濃度依存性の容積血管の収縮とそれに伴う鼻腔抵抗の減少を報告し鼻アレルギーに見られるようにくしゃみ、鼻汁、鼻閉は起こらなかったと述べている。今回の検討において鼻アレルギー症状と PAF および Lyso-PAF 濃度との間に明らかな相関が認められなかったことから考えると、PAF 単独では、鼻アレルギーの三大症状を引き起こす可能性は低いと思われたが、鼻症状を起こしうる他のメディエーターの影響を考慮し、今後症例数を増やし検討を進めていく必要があると思われた。

アレルギー疾患においていまだに解決されない問題として抗原暴露数時間後に出現する遅相性反応がある。皮膚においては、抗原注射部位に即時性に出現する丘疹と発赤に引き続き 6—24 時間後に出現する浮腫と紅斑であり²⁵⁾²⁶⁾、下気道では抗原吸入後即時性に起こる気道収縮反応後 3—24 時間後に出現する再発作であり²⁷⁾、上気道では鼻粘膜抗原誘発後即時性に出現するクシャミ、鼻汁、鼻閉後、3—24 時間後に出現する鼻閉である²⁸⁾。組織学的には、好酸球を中心とする細胞

浸潤により特徴づけられ、抗 IgE 抗体にても同様な反応が観察され、局所に免疫複合体を認めないことより、この反応は I 型アレルギー反応に起因するものと考えられている²⁵⁾。皮膚においては PAF を皮内注射すると同様な 2 相性の反応が観察され²⁰⁾、抗原による遅相性反応が PAF 拮抗薬である BN52063 前投与により抑制されること²²⁾より遅相性反応に PAF が関与していると考えられている。気道アレルギーにおいても、遅相性喘息反応を起こした患者の血液中に多量の Lyso-PAF が検出されること²⁹⁾、PAF 拮抗薬である BN52063 が、即時型気道収縮ならびに 6 時間後の気道過敏性亢進を抑制すること²³⁾、感作動物を用いた実験においても抗原吸入 24 時間後の気道過敏性亢進ならびに好酸球浸潤を PAF 拮抗薬が抑制すること²¹⁾からこの反応に PAF が関与していると考えられている。すでに、我々は、感作モルモットに対する抗原点鼻 4 時間後の好酸球浸潤を CV-3988 が抑制し、PAF 点鼻により著しい好酸球浸潤が起こることを確認している³⁰⁾。さらに今回の実験結果から PAF が局所で産生されうるのは、遅相性反応において PAF が何らかの関与をしている可能性が高いと考えられ、その点についてさらなる検討が必要であると考えられた。また、抗原誘発 4 時間後に PAF、Lyso-PAF 検出率が高かったことは、この時間帯に前述した PAF を産生する細胞が局所へ浸潤していることが予想され、この遅相性に放出された PAF が次の細胞浸潤を引き起こすというようなメカニズムが存在するかもしれない。

V ま と め

花粉症患者および実験的鼻アレルギーモルモットの鼻腔洗浄液中 PAF、Lyso-PAF 濃度を測定した結果以下の知見を得た。

1. PAF または Lyso-PAF は、抗原誘発前には 10 例の花粉症患者中 1 例において検出され、誘発後早期に 7 例において検出された。8 例において抗原誘発 3 時間以降に検出された。

2. モルモットに対する鼻腔内抗原灌流により、灌流液中 PAF 濃度は、即時性に有意に上昇した。

以上のことより、PAF は鼻アレルギーにおいて局所で放出され、鼻アレルギーの病態に関与していることが示唆された。

参 考 文 献

- 1) Benveniste J, Henson PM, Cochrane CG: Leukocyte

- dependent histamine release from rabbit platelets. *J Exp Med* 136: 1356-1377, 1972.
- 2) Demopoulos CA, Pinckard RN, Hanahan DJ: Platelet-activating factor: evidence for 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine as the active component (a new class of lipid chemical mediators). *J Biol Chem* 254: 9355-9358, 1979.
 - 3) Hartung HP, Parnham MJ, Winkelman J et al: Platelet-activating factor (PAF) induces the oxidative burst in macrophages. *Int J Immunopharmacol* 5: 115-121, 1983.
 - 4) Shaw JO, Pinckard RN, Ferrigni KS et al: Activation of human neutrophils with 1-O-hexadecyl/octadecyl-2-acetyl-sn-3-phosphorylcholine (platelet-activating factor). *J Immunol* 127: 1250-1255, 1981.
 - 5) Lee TC, Lenihan DJ, Malone B et al: Increased biosynthesis of platelet-activating factor in activated human eosinophils. *J Biol Chem* 259: 5526-5530, 1984.
 - 6) Rubin AE, Smith LJ, Patterson R: The bronchoconstricting properties of platelet-activating factor in humans. *Am Rev Respir Dis* 136: 1145-1151, 1987.
 - 7) Cuss FM, Dixon CMS, Barnes PJ: Effects of platelet activating factor on pulmonary function and bronchial responsiveness in man. *Lancet* 26: 189-192, 1986.
 - 8) Humphrey DM, McManus LM, Satouchi K et al: Vasoactive properties of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine and analogues. *Lab Invest* 46: 422-427, 1982.
 - 9) Michel L, Denizot Y, Thomas Y et al: Release of PAF-acether and precursors during allergic cutaneous reactions. *Lancet* 13: 404, 1988.
 - 10) Bligh EG, Dyer WJ: A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917, 1959.
 - 11) Pinckard RN, Farr RS, Hanahan DJ: Physicochemical and functional identity of rabbit platelet-activating factor (PAF) released in vivo during IgE anaphylaxis with PAF released in vitro from IgE sensitized basophils. *J Immunol* 123: 1847-1857, 1979.
 - 12) Arnoux B, Joseph M, Simoes MH et al: Antigenic release of PAF-acether and β -glucuronidase from alveolar macrophages of asthmatics. *Bull Eur Physiol Respir* 23: 119-124, 1987.
 - 13) 相馬新也, 朝倉光司: 実験的鼻アレルギーの確立と鼻粘膜における β -adrenergic receptor の検討. *札幌医誌* 55: 161-175, 1986.
 - 14) 白崎英明, 小島 正, 朝倉光司, 形浦昭克: 実験的鼻アレルギーモデルモットにおける chemical mediator 放出に関する検討. *日耳鼻* 91: 1049-1053, 1988.
 - 15) Barbaro JF, Zweifler NJ: Antigen-induced histamine release from platelets and rabbits producing homologous PCA antibody. *Proc Soc Exp Biol Med* 122: 1245-1247, 1966.
 - 16) Mollinedo F, Gomez-Cambronero J, Cano E et al: Intracellular localization of platelet-activating factor synthesis in human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* 154: 1232-1239, 1988.
 - 17) Chignard M, LeCouedic JP, Varghaftig BB et al: Platelet activating factor (PAF-acether) secretion from platelets: effect of aggregating agents. *Br J Haematol* 46: 455-464, 1980.
 - 18) Haye-Legrand I, Dulioust A, Vivier E et al: Production of PAF-acether and leukotrienes by cultured mouse macrophages. *Pharmacol Res Commun* 18 Suppl: 239-242, 1986.
 - 19) Camussi G, Aglietta M, Malavasi F et al: The release of platelet-activating factor from human endothelial cells in culture. *J Immunol* 131: 2397-2403, 1983.
 - 20) Archer CB, Page CP, Paul W et al: Inflammatory characteristics of platelet-activating factor (PAF-acether) in human skin. *Br J Dermatol* 110: 45-50, 1985.
 - 21) Coyle AJ, Urwin SC, Page CP et al: The effect of the selective PAF antagonist BN52021 on PAF- and antigen-induced bronchial hyperreactivity and eosinophil accumulation. *Eur J Pharmacol* 148: 51-58, 1988.
 - 22) Roberts NM, Page CP, Chung KF et al: Effect of a PAF antagonist, BN52063, on antigen-induced, acute, and late-onset cutaneous responses in atopic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 82: 236-241, 1988.
 - 23) Guinot P, Brambilla C, Duchier J et al: Effect of BN52063, A specific PAF-acether antagonist, on bronchial provocation test to allergens in asthmatic patients. *Prostaglandins* 34: 723-731, 1987.
 - 24) Pipkorn U, Karlsson G, Bake B: Effect of platelet activating factor on human nasal mucosa. *Allergy* 39: 141-145, 1984.

- 25) Solley GO, Gleich GJ, Jordon RE et al: The late phase of the immediate wheal and flare skin reaction. *J Clin Invest* 58: 408-420, 1976.
- 26) Dolovich J, Hargreave FE, Chalmers R et al: Late cutaneous allergic responses in isolated IgE-dependent reactions. *J Allergy Clin Immunol* 52: 38-46, 1973.
- 27) Pepys J, Hutchcroft BJ: Bronchial provocation tests in etiologic diagnosis and analysis of asthma. *Am Rev Respir Dis* 112: 829-859, 1976.
- 28) Dvoracek JE, Yunginger JW, Kern EB et al: Induction of nasal late-phase reactions by insufflation of ragweed-pollen extract. *J Allergy Clin Immunol* 73: 363-368, 1984.
- 29) Nakamura T, Morita Y, Kuriyama M et al: Platelet-activating factor in late asthmatic

response. *Int Archs Allergy appl Immun* 82: 57-61, 1987.

- 30) 白崎英明, 朝倉光司: 血小板活性因子によるモルモット鼻粘膜血管透過性亢進作用および好酸球遊走作用に関する検討. 日耳鼻 投稿中.

稿を終えるにあたり, 御校閲戴いた恩師形浦昭克教授に深く感謝いたします.

なお本研究の一部は, 第13回国際アレルギー学会 (スイス), 第39回日本アレルギー学会, 第27, 28回日本鼻科学会において発表した.

(1989年12月4日受稿 1990年1月8日受理 急載)
別刷請求先 〒060 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学耳鼻咽喉科学教室 白崎英明