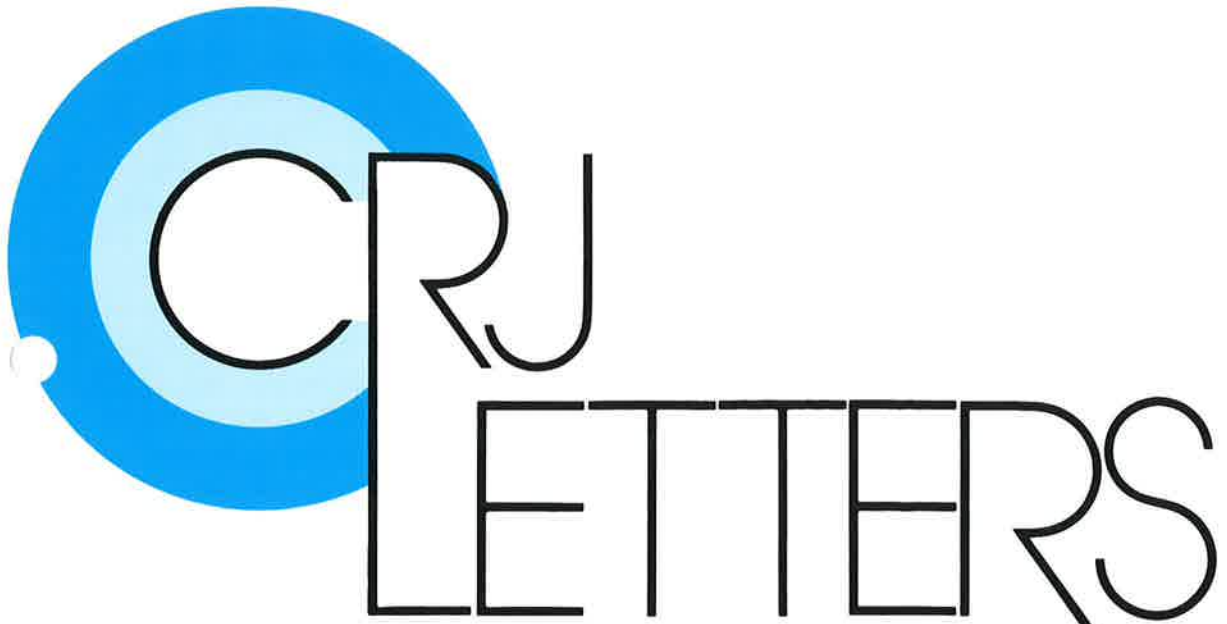


Vol.10 No.1

June 1997



# CRJ LETTERS

— 卷頭論文 —

気管支喘息とBrown Norwayラット

**Charles River**  
**Japan Inc.**



FROM THE  
HAND OF THE  
VETERINARIAN  
TO RESEARCH

## 気管支喘息とBrown Norway ラット

筑波病院内科 渡辺 東

### 要旨

アトピー性気管支喘息は、I型アレルギーの代表的疾患であり、IgEを介した肥満細胞の活性化により惹起されると考えられてきた。われわれは抗原誘発性気道反応の遅発反応相に、CD4陽性細胞の活性化が深く関与することを報告し、遅発型喘息反応に肥満細胞の活性化以外のメカニズムが存在することを示した。この単純ではあるが重要な発見は、Brown Norway (BN) ラットの気管支喘息の疾患モデルとしての有用性によるところが大きい。BNラットは、IgE抗体産生、抗原誘発性気道収縮、即時型反応と遅発型反応、好酸球性気道炎症、気道過敏性の獲得、Th2タイプのサイトカイン発現など、気管支喘息の疾患モデルとして適した数々の特徴を有する。本稿では、喘息モデルとしてのBNラットに関して概説し、特に遅発型喘息反応と気道過敏性の病態に関し最近の知見を交えて論じる。

### はじめに

気管支喘息は、気道炎症に伴う可逆性の気道狭窄と、種々の刺激に対する気道過敏性により特徴付けられる疾患である。喘息患者の中で外来吸入抗原に対するIgE抗体を有する場合、外因性（アトピー性）気管支喘息と称される。外因性気管支喘息患者に抗原吸入誘発を行うと、即時型喘息反応（immediate

asthmatic response, IAR）に続きしばしば遅発型喘息反応（late asthmatic response, LAR）を認める<sup>1,2)</sup>。またLARを発現した場合には、ヒスタミン等の吸入刺激に対する気道過敏性（airway hyperresponsiveness :AHR）が観察され、LARとAHRとの関連が指摘されている<sup>3)</sup>。

このようにLARとAHRは気管支喘息の特徴であり、その病態解明が喘息の病態研究の中心的なテーマであった。従来これらの病態は、I型アレルギー反応であるIgEを介する肥満細胞の活性化（IAR）によって引き起こされる現象と考えられ、ヒスタミン、NCF、leukotriene(LT)D<sub>4</sub>、thromboxane A<sub>2</sub>、PAFなど多くの化学伝達物質の関与と、炎症細胞として肥満細胞や好酸球、白血球が注目されていた<sup>2)</sup>。

最近われわれは、CoombsとGellの過敏性反応の分類に属さないタイプの細胞性免疫反応が、LARの発現に深く関与することを報告した<sup>3,4)</sup>。この発見にはBNラットの気管支喘息の動物モデルとしての有用性によるところが大きい。本稿ではBrown Norway (BN)ラットの喘息モデルとしての特徴の概略を述べ、次いでLARの発現機序とAHRの獲得過程に関する最近の知見を紹介する。

### 著者プロフィール



医学博士。1983年、筑波大学医学専門学群卒業。国立医療センター呼吸器科、帝京大学第二内科助手、筑波学園病院呼吸器科長を経て1992年から2年間カナダMcGill大学Meakins-Christie研究所に留学。気管支喘息の研究に従事。カナダ胸部疾患学会フェロシップ。現在、筑波病院診療部長。研究テーマは、気管支喘息の病態、呼吸器病学。趣味は、読書、陶芸、アイスホッケーなど。



## 1) 喘息モデルとしてのラット

従来の喘息研究においては、肺メカニクスなどの生理学的実験の都合上、犬やサルなどの中動物を用いた実験が中心であった。近年肺メカニクスの解析法などの技術的な進歩と免疫学的研究上の利点から、ラットやマウスなどの小動物が頻繁に使用されるようになった。特にBNラットは、アレルギー性気道狭窄反応とAHRを呈する気管支喘息の動物モデルとして紹介され<sup>5,6)</sup>、現在LARとAHRの成立に関して最も解析が進んだ動物モデルといえる。また容易に経口気管内挿管が可能であり、反復する抗原や薬剤の投与、正確な肺抵抗の測定などが可能であり、実験動物としての多くの利点を有する。

## 2) BNラットの特徴

2.1) BNラットのメサコリンに対するAHRは近交系ラットの中では低く<sup>7)</sup>、アレルギー反応などの後天的な機序でAHRを誘導する<sup>6)</sup>。一方Fisherラットは先天的なAHRを有し、解剖学的には気道平滑筋が多く<sup>7)</sup>、また気道平滑筋細胞の種々のagonistに対する増殖能が高く<sup>8)</sup>、細胞内Caシグナルにも差があることが知られている<sup>9)</sup>。このようにラットのAHRは、一部解剖学的な要因や平滑筋細胞自体の特性に規定されると考えられる。抗原の反復刺激によりAHRが亢進したBNラットでは、気道の平滑筋細胞の増殖することが報告されている<sup>10)</sup>。

## 2.2) 感作後のIgE抗体産生

BNラットは他の近交系ラットに比してレアギン抗体産生能が高く<sup>11)</sup>、アジュバントを用いるとIgE抗体産生はさらに促進される。OAを抗原として酸化アルミゲルと百日咳ワクチンを用いた能動感作を行うと、約1週間後からOA特異的IgE抗体が検出され、約3週後にピークを持つ<sup>12)</sup>。これに対しIgG抗体産生のピークは約6-10週後であることから、I型過敏性反応を惹起する目的では、感作後2週から3週に抗原刺激を行うことが多い。この他に抗原の反復吸入によっても感作は成立する。IgE抗体産生は、IL-4により制御を受けるが、BNラットではIL-4の産生が高いことが報告され、高いIgE抗

体産生能との関連が示唆される<sup>13)</sup>。

## 2.3) 抗原誘発性気道収縮

OA感作2週間後のBNラットに対しOA吸入刺激を行うと、約66%から70%に急激な気道狭窄反応(IAR)が観察される<sup>5,14)</sup>。このIARはIgE抗体を介する肥満細胞の活性化により引き起こされ、5-HTとLTD<sub>4</sub>拮抗薬で抑制される<sup>14)</sup>。IAR時の組織学的検索では、平滑筋収縮による気道狭窄が証明され<sup>15)</sup>、また気道狭窄には血管透過性亢進も関与する<sup>16)</sup>。肺組織の生切片を顕微鏡下で観察すると、IARは平滑筋収縮による気道狭窄として観察できる<sup>17)</sup>。

またIARで上昇した肺抵抗は、一度回復した後、刺激後3から8時間の間に持続的な気道狭窄が観察される。この気道狭窄反応は、好酸球浸潤を伴う気道炎症と過分泌を伴いLARに相当すると考えられ、その出現率は46%から66%である<sup>5,13)</sup>。BNラット以外のラットで、高頻度のLARを出現するものは知られていない。LARの病態としては、平滑筋収縮の他、過分泌、炎症細胞の浸潤、気道の浮腫等が重要と考えられるが、BNラットのLARにおいても同様の変化が観察される<sup>18)</sup>。また、肺抵抗の上昇には組織抵抗の変化も関与することが知られている<sup>19)</sup>。

BNラットにおける抗原刺激後の気道狭窄と胆汁中のLT代謝産物の排泄量を比較観察した結果、IARとLARに一致してLTの産生亢進を認めた<sup>20)</sup>。またLTD<sub>4</sub>拮抗剤が強力にLARを抑制することから<sup>13)</sup>、BNラットのLARにおいてLTは重要なメディエーターと考えられる。LTの産生細胞に関しては、現在のところ明確な産生細胞が特定されておらず、好酸球以外の細胞や複数の細胞間でのLTD<sub>4</sub>への変換などの機序が推測されている<sup>21,22)</sup>。

## 2.4) 気管支肺胞洗浄と気道内炎症細胞浸潤

抗原吸入誘発8時間後の気管支肺胞洗浄の解析では、白血球の増加が主であり<sup>19)</sup>、また抗MBP抗体を用いた免疫組織学的検索では好酸球浸潤が認められる<sup>4)</sup>。24-32時間後の検索では、白血球数は減少し、マクロファージ、好酸球、リンパ球が増加する<sup>29)</sup>。

## 3) LARの発現機序

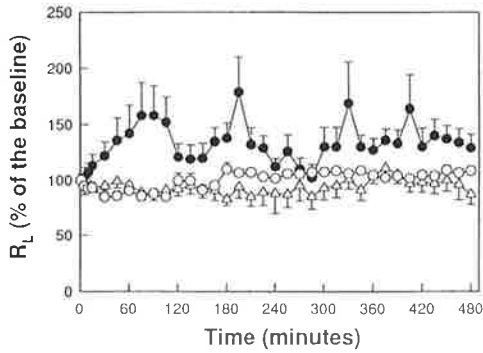
近年気管支喘息とリンパ球との関係が注目されているが、抗原誘発後の喘息反応におけるリンパ球の関与は明らかではなかった。SDラットに感作動物のIgE抗体を用いて受動感作すると、抗原刺激によりIAR様の急激な気道狭窄を観察できるが、遅発型アレルギーは認めない<sup>24)</sup>。後者が発現するのは能動感作を行った場合であり、遅発型アレルギーに液性免疫以外の成因が推測された<sup>25)</sup>。一方、T細胞の活性化作用を有するIL-2を前投与すると、BNラットで抗原刺激後のIARとLARは増強され、これらの反応にリンパ球機能が影響することが示唆された<sup>26)</sup>。またLARの強さは、末梢血リンパ球の抗原刺激による幼弱反応と相関を示し、リンパ球機能とLARが密接に関係することが推測された<sup>27)</sup>。

Olivensteinらは、LARを通常発現しないSDラットを用い、ラットCD8に対するモノクローナル抗体(mAb)を用いてCD8陽性細胞を低下させると、抗原吸入刺激後にLARが観察されることを報告し、CD8陽性細胞がLARの発現を抑制している可能性を示唆した<sup>28)</sup>。さらにCD4陽性細胞に対するmAbの投与は、BNラットにおける抗原誘発性LARを完全に抑制し<sup>29)</sup>、リンパ球のLARへの関与が最初に示された。

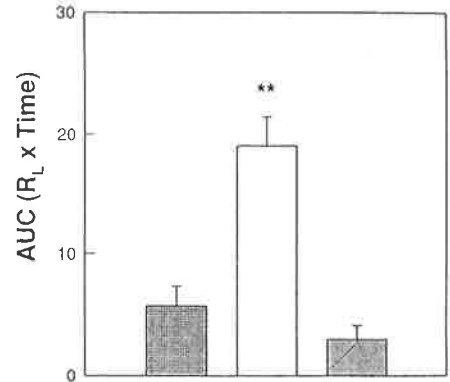
LAR発現におけるリンパ球の関与は、われわれの行ったadoptive transferによる実験により確認された。OA感作後ドナーの胸郭内リンパ節からT細胞を採取し、未感作BNラット(レシピエント、R)にadoptive transferを行った<sup>3)</sup>。その2日後RにOA吸入刺激を行うと、LAR様の持続的な肺抵抗の上昇を認め、対象の未感作T細胞のRやBSA刺激を受けたRではこの反応を観察しなかった(Fig. 1)。個々の肺抵抗の上昇を時間軸に対する面

積(AUC)で定量化すると、OA感作T細胞のRで有意な気道反応を認めた(Fig. 2)。気管支肺胞洗浄の検討では、抗原刺激後8時間後では有意な変化を認めなかったが、32時間後に好酸球の増加を認めた(Fig. 3)。以上より、感作T細胞の移入により、気道狭窄反応と気道内好酸球浸潤が惹起された。ELISA法とPCA反応を用いた解析では、すべてのRにOA特異的IgE抗体を認めなかった(Table 1)。われわれが観察した反応は、IgEを介する肥満細胞の活性化によるものではないと考えられ、事実抗原刺激後に通常の感作BNラットのIARで観察される急激な肺抵抗の上昇は認めない(Fig. 1参照)。

次にmagnetic sortingによるnegative selection法を用いてCD4(W3/25)陽性細胞とCD8(OX8)陽性細胞を選択的に採取し、adoptive transferを用いた同様の実験を行った<sup>4)</sup>。この方法で得られたCD4陽性細胞の純度はほぼ99%である(Table. 2)。その結果、 $2 \times 10^6$ 個のOA感作CD4陽性細胞を移入したRで肺抵抗の上昇を認め、OA感作CD8陽性細胞では変化を認めなかった(Fig. 4)。次にこの反応が抗原特異的な反応かどうかを検証するために、BSA感作動物から得たCD4陽性細胞を用いて同様の実験を行った。その結果BSA感作CD4陽性細胞のRでは肺抵抗の上昇は認めなかった(Fig. 5)。以上の4群で認めた個々のラットの気道反応をAUCを用いて定量化したところ、CD4陽性細胞のRで用量依存的なLARが観察された(Fig. 6)。またBAL中細胞種類の検討では、CD4陽性細胞のRに著明なMBP陽性細胞の気道内浸潤を認めた(Fig. 7)。これらのラットに特異的IgE抗体は検出されず<sup>4)</sup>(Table. 3)、液性免疫の関与は否定的であり、CD4陽性細胞がLARを惹起したと考えられる。

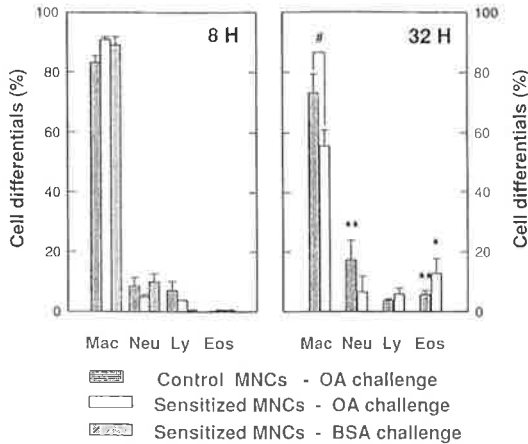


**Figure 1** Time course of changes in lung resistance ( $R_L$ ) after OA challenge. BN rats were sensitized or sham-sensitized to OA, and 14 d later MNCs were isolated from the intrathoracic lymph nodes. The recipients of OA-primed MNCs were challenged with OA (closed circles,  $n = 8$ ) or BSA (open triangles,  $n = 5$ ), and the recipients of sham sensitized MNCs were challenged with OA (open circles,  $n = 8$ ). A significant effect was demonstrated by ANOVA ( $p < 0.0001$ ).

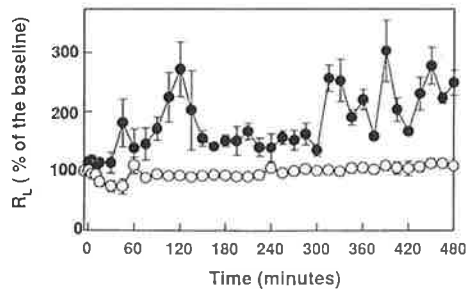


Sensitization: Sham OA OA  
Challenge: OA OA BSA

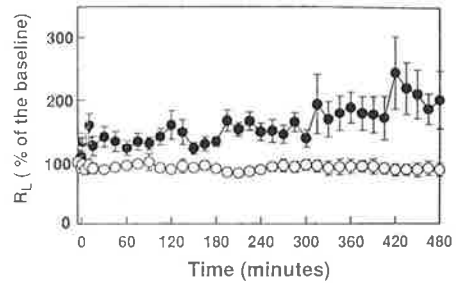
**Figure 2** Late airway responses (LAR) after OA challenge. The increases in  $R_L$  from 3 to 8 h after antigen challenge were quantitated by calculating the area under the  $R_L$  curve against time (cm  $H_2O/ml/s \times$  minutes). The recipients that were given sensitized MNCs and challenged with OA exhibited statistically significant LAR compared with other groups. (\*\* =  $p < 0.01$ ).



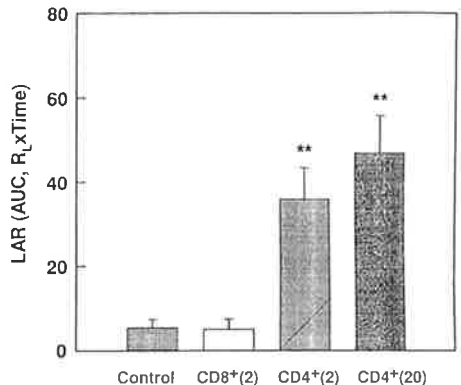
**Figure 3** Effect of adoptive transfer on cellular profile in BAL performed at 8 and 32 h after OA challenge. The lungs were lavaged through the endotracheal tube with 25 ml of saline, and cytospin slides were prepared for cell differentials by Wright-Giemsa staining. Results are expressed as means  $\pm$  SE %. (\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$  compared with the data 8 h after the antigen challenge. # =  $p < 0.05$  compared with the control group).



**Figure 5** Time course of changes in lung resistance ( $R_L$ ) after OVA challenge in the recipients of purified W3/25+ cells which were primed to either OVA or BSA. BN rats were sensitized to either OVA or BSA on day 0. On day 14 W3/25+ cells were isolated from the cervical lymph nodes of sensitized animals and were transferred to naive, syngeneic BN rats. CD4+(20) group (closed circles,  $n = 4$ ) received 20 million W3/25+ cells from OVA sensitized donors and control group (open circles,  $n = 6$ ) received 20 million W3/25+ cells from BSA sensitized donors. On day 16 the recipients were challenged by aerosolized OVA as described in Fig. 1. The baseline values of  $R_L$  between the groups were not significantly different (0.203  $\pm$  0.016 cm  $H_2O/ml$  per s for CD4+(20) group and 0.197  $\pm$  0.08 cm  $H_2O/ml$  per s for the control group). A significant effect between groups was demonstrated by ANOVA ( $P < 0.001$ ).



**Figure 4** Time course of changes in lung resistance ( $R_L$ ) after OVA challenge in the recipients of either W3/25+ or OX8+ cells from sensitized rats. Naive BN rats received either purified 2 million W3/25+ cells (CD4+(2) group) or OX8+ cells (CD8+ group), which were obtained from OVA-sensitized donors 14 d after the sensitization. 2 d later the recipients were inhaledly challenged with 5% OVA in PBS for 5 min. Rats were analyzed for changes in  $R_L$  before, at 5, 10, and 15 min after the OVA challenge, and at 15-min intervals for a total period of 8 h. The baseline value of  $R_L$  in the CD4+(2) group (closed circles,  $n = 6$ ) was 0.186  $\pm$  0.017 cm  $H_2O/ml$  per s, and 0.203  $\pm$  0.08 cm  $H_2O/ml$  per s in the CD8+ group (open circles,  $n = 6$ ). A significant effect between groups was demonstrated by ANOVA ( $P < 0.001$ ).



**Figure 6** Late phase airway responses after OVA challenge. To compare the magnitude of individual airway responses induced by antigen challenge, we calculated the area under the  $R_L$  curve after the OVA challenge in each rat. This calculation was done by determining the area under the  $R_L$  curve against time, above the baseline value, from 3 to 8 h after the OVA challenge (cm  $H_2O/ml$  per s  $\times$  minutes). Kruskal-Wallis test was used; \*\* significant statistical difference ( $P < 0.01$ ).

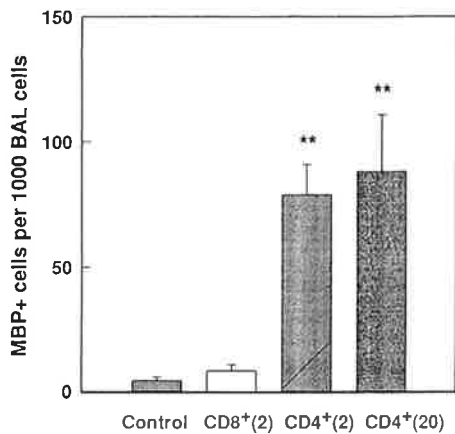


Figure 7 Eosinophil counts in BAL by immunocytochemistry. Eosinophil counts were assessed by APAAP using BMK13, an anti-human MBP mAb, on BAL slides prepared at the same time with those in Fig. 4. The recipients of OVA-primed helper T cells, CD4+ (2) and CD4+ (20) groups, had significant BAL eosinophilia compared to control and CD8+ groups (\*\*  $P < 0.01$ ).

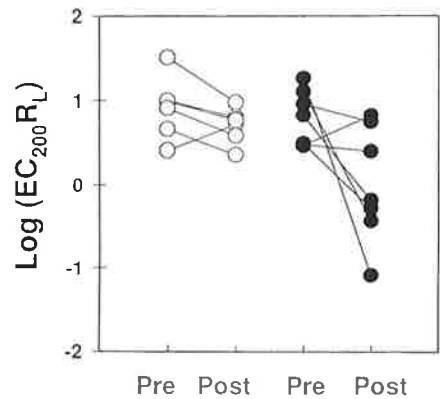


Figure 9 Changes in airway responsiveness to MCh after antigen exposure. The recipients of either sensitized MNCs ( $n = 7$ ) or sham-sensitized MNCs ( $n = 7$ ) were challenged by aerosolized OA, and the airway responsiveness ( $EC_{200R_L}$ ) was determined at 32 h after the antigen exposure. Four rats of seven that received sensitized MNCs became hyperresponsive (less than the mean - 2SD of the combined baseline value of  $EC_{200R_L}$  in both groups;  $p = 0.035$ , Fisher's exact test).

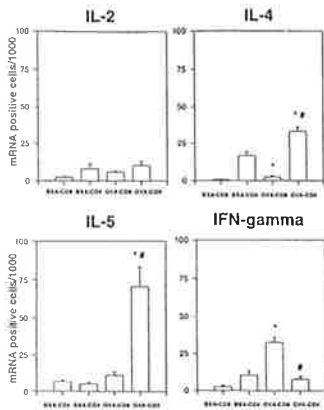


Figure 8 Cytokine mRNA profile of BAL cells in the recipients of BSA-primed CD4+ (W3/25) and CD8+ (OX8+) T cells (control), or OVA-primed CD4+ (W3/25) and CD8+ (OX8+) T cells following inhalational OVA challenge (expressed as number of positive cells per 1,000 cells counted). \* $P < 0.001$  versus BSA-primed control; # $P < 0.001$  versus OVA-primed CD8+ T cell transfers.

TABLE 1  
ELISA FOR SERUM OA-SPECIFIC IgE IN RECIPIENT RATS AND RESULTS OF PCA REACTIONS

Group	Transferred Cells	OA-specific IgE (absorbance units, mean $\pm$ SE)	PCA reactions* (mm, mean $\pm$ SE)
Test rats	Sensitized MNCs	0.141 $\pm$ 0.004 ( $n = 7$ )	0 ( $n = 7$ )
Control rats	Sham-sensitized MNCs	0.151 $\pm$ 0.004 ( $n = 7$ )	0 ( $n = 7$ )
Negative controls		0.152 $\pm$ 0.002 ( $n = 2$ ) <sup>†</sup>	0 ( $n = 2$ ) <sup>†</sup>
Positive controls		1.788 $\pm$ 0.064 ( $n = 3$ ) <sup>‡</sup>	15.2 $\pm$ 0.9 ( $n = 6$ ) <sup>‡</sup>

\* Diameters of the wheals were measured at 30 min after the antigen challenge.  
<sup>†</sup> Sera from unsensitized rats were used as negative controls.  
<sup>‡</sup> Sera from sensitized donor rats were used as positive controls.

#### 4) サイトカインの関与

気管支喘息患者における気管支肺胞洗浄の検索から、気道でのTh2タイプのリンパ球の活性化が知られている<sup>30)</sup>。また抗原刺激後においてもTh2タイプのサイトカイン活性を示す<sup>31)</sup>。LARを発現したBNラットのBAL中細胞では、IL-4、IL-5のmRNAが発現し<sup>32)</sup> (Fig. 8)、32時間においても同様の傾向を示した<sup>33)</sup>。興味あることにLARを発現しないSDラットではTh1タイプを示す<sup>12)</sup>。

#### 5) AHRの獲得

BNラットにおける抗原誘発性のAHRは、LARに遅れて発現する。単回の抗原刺激では、刺激後約24から32時間からメサコリン吸入に対する一過性のAHRが観察され、5日後には正常に戻る<sup>6,23)</sup>。抗原反復刺激では、より高度で長期のAHRが誘導される。この中で好酸球や活性化リンパ球がAHRの獲得に直接的に関与すると考えられる<sup>36,37)</sup>。



AHRの成立に関しても、リンパ球が深く関与する可能性がadoptive transferの実験から得られている。メサコリンに対するAHRを測定したRに、感作T細胞を移入し抗原刺激を行ったところ32時間後にAHRが誘導され、AHRの成立に関してもT細胞の活性化が関与することが示された<sup>3)</sup>(Fig.9)。一方CD8陽性細胞の関与を示唆する報告<sup>39)</sup>もあり、LARとAHRの成立機序に差があることも示唆されている。さらに他の炎症細胞との関連においても、低用量の副腎皮質ホルモンやcyclosporin Aの投与で気道内炎症細胞の浸潤を抑制してもAHRを抑制しないと示す報告もあり<sup>39,40)</sup>、リンパ球と好酸球の活性化以外に、複雑な成因而よりAHRが誘導されていると考えられる。

## 6) 喘息反応と接着分子

接着分子は、炎症細胞の活性化、移動などにおいて重要な分子である。喘息に伴う気道炎症は、好酸球とリンパ球の浸潤と活性化が特徴であることから、この両者に発現する接着分子は、喘息反応に影響を与えると考えられる。事実、好酸球とリンパ球に発現するVLA-1に対するmAbを用いると、これらの細胞の気道内浸潤は著明に抑制される<sup>41)</sup>。またリンパ球が持つLFA-1に対するmAb(TA-2)やVLA-4に対するmAb(TA-3)の投与は、LARおよびLAR等の気道狭窄反応を抑制し<sup>42)</sup>、かつAHRも抑制する<sup>43)</sup>。同様にICAM-1に対するmAbの投与は、好酸球浸潤とAHRを抑制する<sup>44)</sup>。これらの結果から、抗原誘発性喘息反応における気道狭窄反応や炎症細胞の浸潤に、接着分子が関与することがBNラットを用いて示された。

## 7) おわりに

BNラットにおける抗原誘発性のLARとAHRの成立機序に関し概説した。従来LARに続発する現象と考えられていたLARに細胞性免疫の関与が明らかになり、またAHRの成立に至る過程もより詳細に解明されつつある。BNラットの喘息モデルとしての歴史は浅く、今後ますます喘息研究の発展に寄与すると考えられる。

## 謝辞

本稿は、帝京大学医学部付属市原病院第三内科三島秀康先生、国立国際医療センター呼吸器内科放生雅章先生、東京医科歯科大学第一内科磯貝進先生との共同研究と、カナダMcGill大学Meakins-Christie研究所のJames Martin教授のグループによる研究成果を中心にまとめたものである。ここにあらためて感謝の意を表し、また今後の研究発展を祈願したい。

Table 2 Flow Cytometry Analysis of Mononuclear Cells from Cervical Lymph Nodes and Purified Cells after Immunomagnetic Cell Separation

mAb	MNCs (mean±SEM)	After MACS* (mean±SEM)
	%	%
Control Ab	1.2±0.6	0.7±0.1
W3/25(CD4)+ cells	59.8±7.4	98.9±0.8
OX8(CD8)+ cells	6.3±2.1	0.6±0.1
OX33+ cells (B cells)	28.9±10.5	0.7±0.0
ED9+ cells	4.4±2.7	1.1±0.5

\* MACS, immunomagnetic cell separation.

Table 3 ELISA for Serum OVA-specific IgE and Passive Cutaneous Anaphylaxis Reactions of the Sera from the Recipient Rats

Group	Transfused cells	OVA-specific IgE (absorbance units, mean±SEM)	Diameters* mm
Control group	BSA-sensitized CD4+ cells	0.130±0.003 (n = 6)	0 (n = 6)
CD8+ group	OVA-sensitized CD8+ cells	0.121±0.002 (n = 6)	0 (n = 6)
CD4+(2) group	OVA-sensitized CD4+ cells	0.124±0.005 (n = 6)	0 (n = 6)
CD4+(20) group	OVA-sensitized CD4+ cells	0.120±0.004 (n = 4)	0 (n = 4)
Negative controls <sup>1</sup>		0.117±0.015 (n = 2)	0 (n = 2)
Positive controls <sup>1</sup>		1.238±0.126 (n = 5)	13.3±1.4 (n = 6)

\* The mean diameter of the dye which appeared 30 min after the antigen challenge was measured (mean±SEM). <sup>1</sup> PBS was used for negative controls. <sup>1</sup> Sera from OVA-sensitized donor rats were used as positive controls.

- 1) Cockcroft DW, Ruffin RE, Dolovich J, Hargreave FE. Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity. *Clin Allergy* 7:503-513. 1977.
- 2) O'Byrne PM, Dolovich J, Hargreave FE. Late Asthmatic Response. *Am Rev Respir Dis.* 136: 740-751. 1987.
- 3) Watanabe A, Rossi P, Renzi PM, Xu LJ, Guttman RD, Martin JG. Adoptive transfer of allergic airway responses with sensitized lymphocytes in BN rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 152: 64-70. 1995.
- 4) Watanabe A, Mishima H, Renzi PM, Xu LJ, Hamid Q, Martin JG. 1995. Transfer of allergic airway responses with antigen-primed CD4+ but not CD8+ T cells in Brown Norway rats. *J Clin Invest.* 96: 1303-1310. 1995.
- 5) Eidelman DH, Bellofiore S, Martin JG. Late airway response to antigen challenge in sensitized inbred rats. *Am Rev Respir Dis* 137: 1033-1037. 1988.
- 6) Bellofiore S, Martin JG. Antigen challenge of sensitized rats increases airway responsiveness to methacholine. *J Appl Physiol* 65:1642-1646. 1988.
- 7) Martin JG, Opazo-Saez A, Du T, Tepper R, and Eidelman DH. In vivo airway reactivity: predictive value of morphological estimates of airway smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol.* 70: 597-604. 1992.
- 8) Zacour ME, Martin JG. Enhanced growth response of airway smooth muscle in inbred rats with airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol* 15: 590-599. 1996.
- 9) Tao F, Michoud MC, Tolloczko B, Martin JG. Differences in intracellular Ca<sup>2+</sup> between airway smooth muscle of two inbred strains of rats differing in airway responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med.* 151: A285. 1995. (Abstr.)
- 10) Sapienza S, Du T, Eidelman DH, Wang NS, Martin JG. Structural changes in the airways of sensitized Brown Norway rats after antigen challenge. *Am Rev Respir Dis.* 144: 423-427. 1991.
- 11) Murphy SM, Brown S, Miklos N, Fireman P. Reagin synthesis in inbred strain of rats. *Immunology* 27:254-252. 1974.
- 12) Wasserman S, Olivenstein R, Renzi P, Xu LJ, Martin JG. The relationship between late asthmatic responses and antigen-specific immunoglobulin. *J Allergy Clin Immunol* 90:661-669. 1992.
- 13) Renzi PM, Ali S, Assard A, Yang J, Yasruel Z, Hamid Q. Cytokine expression in the presence or absence of late airway responses after antigen challenge of sensitized rats. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 15: 367-373. 1996.
- 14) Sapienza S, Eidelman DH, Renzi PM, Martin JG. Role of leukotriene D4 in the early and late pulmonary responses of rats to allergen challenge. *Am Rev Respir Dis* 142:353-358. 1990.
- 15) Du T, Xu LJ, Mei M, Wang NS, Eidelman DH, Ghezzi H, Martin JG. Morphometric changes during the early airway response to allergen challenge in the rat. *Am Rev Respir Dis.* 146: 1037-1041. 1992.
- 16) Olivenstein R, Xu LJ, Yang JP, Martin JG. Microvascular leak into the airway lumen during the early and late responses to antigen in rats. *Am J Respir Crit Care Med* 149:A528. 1994.
- 17) Dandurand RJ, Wang CG, Laberge S, Martin JG, Eidelman DH. In vitro allergic bronchoconstriction in the Brown Norway rat. *Am J Respir Crit Care Med.* 149: 1499-1505. 1994.
- 18) Du T, Sapienza S, Eidelman DH, Wang NS, Martin JG. Morphometry of the airways during late responses to allergen challenge in the rat. *Am Rev Respir Dis.* 143:132-137. 1991.
- 19) Nagase T, Moretto A, Dallaire MJ, Eidelman DH, Martin JG, Ludwig MS. Airway and tissue responses to antigen challenge in sensitized Brown Norway rats. *Am J Respir Crit Care Med.* 150: 218-226. 1994.
- 20) Martin, J. G., L. J. Xu, M. Y. Toh, R. Olivenstein, and W. S. Powell. Leukotrienes in bile during the early and the late airway responses after allergen challenge of sensitized rats. *Am Rev Respir Dis* 147:104-110. 1993.
- 21) Yu WG, Young D, Powell WS. Eicosanoid synthesis by partially purified eosinophils from rat lungs. *FASEB J* ;8:A356. 1994.
- 22) Hirata K, Maghni K, Borgeat P, Sirois P. Guinea pig alveolar eosinophils and macrophage produce leukotriene B4 but not peptidoleukotriene. *J Immunol* ;144:1880-1885. 1990.
- 23) Elwood, W., J. O. Loetvall, P. J. Barnes, and K. F. Chung. Characterization of allergen-induced bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation in actively sensitized Brown-Norway rats. *J Allergy Clin Immunol* 88:951-960. 1991.
- 24) Sorkness R, Blythe S, Lemanske Jr RF. Pulmonary antigen challenge in rats passively sensitized with a monoclonal IgE antibody induces immediate but not late changes in airway mechanics. *Am Rev Respir Dis* 138:1152-1156. 1988.
- 25) Sorkness R., Johns K, Castleman WL, Lemanske Jr RF. Late pulmonary allergic responses in actively but not passively IgE-sensitized rats. *J Appl Physiol* 69:1012-1021. 1990.
- 26) Renzi, P. M., S. Sapienza, S. Wasserman,





- D. Tao, R. Olivenstein, N. Wang, and J. G. Martin. 1992. Effect of Interleukin-2 on the airway response to antigen in the rat. *Am Rev Respir Dis* 146:163-169.1992.
- 27) Waserman S, Xu LJ, Olivenstein R, Renzi PM, Martin JG: Association between late allergic bronchoconstriction in the rat and allergen-stimulated lymphocyte proliferation in vitro. *Am J Respir Crit Care Med*.151:470-474.1995.
- 28) Olivenstein R, Renzi PM, Yang JP, Rossi P, Laberge S, Waserman S, Martin JG. Depletion of OX-8 lymphocytes from the blood and airways using monoclonal antibodies enhances the late airway response in rats. *J Clin Invest* 92:1477-1482. 1993.
- 29) Olivenstein, R., P. M. Renzi, L. J. Xu, J. P. Yang, and J. G. Martin. Effects of W3/25 monoclonal antibody on pulmonary inflammation and the late airway response in Brown-Norway rats. *Am J Respir Crit Care Med* 149: A528. 1994.
- 30) Robinson D, Hamid Q, Ying S, Tsiopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* 326:298-304.1992.
- 31) Robinson DS, Hamid Q, Jacobson M, Ying S, Kay AB, Durham SR. Evidence for Th2-type T helper cell control of allergic disease in vivo. [Review]. *Springer Semin Immunopathol* 15: 17-27.1993.
- 32) Watanabe A, Mishima H, Kotsimbos TC, Hojo M, Renzi PM, Martin JG, Hamid Q. A doptively transferred late allergic responses are associated with Th2-type cytokines in the rat. 1997. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 16:69-74.1997.
- 33) Mishima H, Watanabe M, Hojo, Martin JG and Hamid Q. Allergen induced airway hyperresponsiveness(AHR) in BN rats is associated with bronchoalveolar lavage eosinophilia and interleukin (IL-5) expression. *Am J Respir Crit Care Med*. 153: A140. 1996.
- 34). Eidelman DH, Minshall E, Dandurand RJ, Schotman E, Song YL, Yasrael Z, Moqbel R, Hamid Q. 1996. Evidence for major basic protein immunoreactivity and interleukin 5 gene activation during the late phase response in explanted airways. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 15: 582-589.1996.
- 35) 抗原誘発性遅発型喘息反応に対するIFN $\gamma$ の効果: 磯貝進、渡辺東、宮崎泰成、久内薫、角勇樹、沢田めぐみ、海野剛、三宅修司、吉澤靖之。アレルギー第45巻p.894。1996。
- 36) Elwood W, Barnes PJ, Chung KF. Airway hyperresponsiveness is associated with inflammatory cell infiltration in allergic Brown-Norway rats. *Int Arch Allergy Immunol* 99:91-97.1992
- 37) Haczku A, Moqbel R, Jacobson M, Kay AB, Barnes PJ, Chung KF. T-cells subsets and activation in bronchial mucosa of sensitized Brown-Norway rats after single allergen exposure. *Immunology*. 85: 591-597. 1995.
- 38) Laberge S, Xu L, Olivenstein R, Xu LJ, Renzi PM, Martin JG. Depletion of CD8+ T cells enhances pulmonary inflammation but not airway responsiveness after challenge in rats. *J Allergy Clin Immunol*. 98: 617-627. 1996.
- 39) Renzi PM, Olivenstein R, Martin JG. Effect of dexamethasone on airway inflammation and responsiveness after antigen challenge of the rat. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:932-939.
- 40) Elwood W, Loetvall JO, Barnes PJ, Chung KF. Effect of dexamethasone and cyclosporin A on allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammatory cell responses in sensitized Brown-Norway rats. *Am Rev Respir Dis*.; 145: 1289-1294.1992.
- 41) Richards IM, Kolbasa KP, Hatfield CA, Winterrowd GE, Vonderfecht SL, Fidler SF, Griffin RL, Brashler JR, Krzesicki RF, Sly LM, Ready KA, Staite ND, Chin JE. Role of very late activation antigen-4 in the antigen-induced accumulation of eosinophils and lymphocytes in the lungs and airway lumen of sensitized Brown Norway rats. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 15: 172-183.1996.
- 42) Rabb HA, Olivenstein R, Issekutz TB, Renzi PM, Martin JG. The role of the leukocytes adhesion molecule VLA-4, LFA-1, and Mac-1 in allergic airway responses in the rat. *Am J Respir Crit Care Med*.149:1186-1191.1994.
- 43) Laberge S, Rabb H, Issekutz TB, Martin JG. Role of VLA-4 and LFA-1 in allergen-induced airway hyperresponsiveness and lung inflammation in the rat. *Am J Respir Crit Care Med*. 151: 822-829. 1995.
- 44) Sun J, Elwood W, Haczku A, Barnes PJ, Hellewell PG, Chung KF. Contribution of intercellular adhesion molecule-1 in allergen-induced airway hyperresponsiveness and inflammation in sensitized Brown-Norway rats. *Int Arch Allergy Immunol*. 104: 291-295. 1994.



# 日本チャールス・リバーからのお知らせ

弊社では自社生産動物以外に海外のブリーダーより広く実験動物を輸入し、国内に供給しています。今回、その中のマーシャル社についてご紹介いたします。

## Marshall Farms, USA, Inc.,

Marshall社は実験用ビーグル犬、モングレル、フェレットを生産し、アメリカ国内はもとより日本・ヨーロッパに実験用動物として長年安定供給を行ってまいりました。

Marshall Farms は米国ニューヨーク州の北部オンタリオ湖の湖畔に面した農園地区の一角に位置し、地理的に隔離された環境下にあります。さらに、ニューヨーク州この地域はブルセラ病がフリーな地域でもあります。

# MARSHALL

F A R M S

5800 Lake Bluff Rd., North Rose, New York, 14516  
Phone 315-587-2295 FAX 315-587-2109



## Marshall Beagle

マーシャル・ビーグルは1962年に生産を開始し現在年間13,000~15,000頭を生産し、試験研究用として全世界にビーグル犬を提供しています。主に医薬品開発における新しい化合物に対する前臨床試験の段階において安全性試験を中心に使用されています。

このような社会的要望に応え Marshall 社では遺伝的管理を徹底し、特に均一性と取扱易い気質の動物確保に努めてまいりました。各個体につきましては4.5ヶ月齢の時点で Marshall 社の約200項目にのぼるチェック項目によりビーグル犬の規格を評価管理し、さらにすべての個体について18週齢の段階で血液生化学検査を実施しています。これらの各個体の記録は生まれた時点からコンピュータで管理され Beagle History report として皆様に情報が提供されます。生産コロニーの評価として眼底検査並びに心電図のチェックを年1回 Cornell 大学の Dr. Riis と Dr. Moise により実施しています。尚、これらの検査はオプションにて提供しております。

## Marshall Beagleの特徴

1. 均一性：ジーンプールが大きく遺伝的に偏りが少ない  
系統のコンピュータ管理による近交係数のチェックにより近交化を防止、  
現在平均世代数は11-12代を経過
2. 健康な動物：きめ細かい健康管理とワクチネーション
3. ヒトに従順：若齢期の子犬への学習により研究に適した性格の動物を提供
4. 安定供給：年間生産頭数 15,000頭

## Marshall Ferret

Ferret とは、2000年前頃、ヨーロッパに生息していた野生のイタチ類の *Mustela putorius* 又は *European polecat* を先祖とするウサギの狩猟用として家畜化されたものの変種と見られるイタチ科の動物です。

Marshall Farm は1963年に Ferret の繁殖生産からスタートいたしました。この動物は生理学、薬理学、ウイルス/免疫学、行動学、寄生虫学、奇形学、毒性学等多くの研究分野で有用性を示しあらゆる分野で使用され、最近では制癌剤の嘔吐試験に多く用いられています。

Marshall Farm では50年の長きにわたり研究用 Ferret として扱い易い、従順な性格の Ferret の繁殖に努めて参りました。その結果、厚手の手袋の必要性を無くし手軽に研究用として実験室で使用出来る動物として確立致しました。尚、研究用としてはオスのみの出荷となっています。



## Ferret の特徴

- 性格はおとなしく、ヒトに従順。
- 被毛の色はセーブル色を研究用として用いている。
- 妊娠期間が 42日と一定。
- 産仔数は通常 6-10 匹で、成獣の体重はオスで 1600g、メスで 800g。
- 体長（尾は別）は 30-40cm。

## Butler Mongrels (試験研究用繁殖雑種大型犬)

Butler Mongrels は Marshall Farms USA, Inc. の関連会社で約13Km離れたところに位置する Butler Farms USA, Inc. で繁殖生産を 1988 年より開始しています。動物の管理は Beagle 犬と同様コンピューター管理されています。生産コロニーの評価として眼底検査並びに心電図のチェックを年 1 回 Conrell 大学の Dr. Riis と Dr. Moise により実施いたしております。

## Butler Mongrels の特徴

短毛で胸部部が広く、従順な大型犬です。成獣の体重は 15-30kg です。Mongrels は主に薬理研究分野(特に循環器)において使用されています。

## ご注文・お問い合わせ先

Marshall Farms のビーグル、モングレル、フェレット は日本チャールス・リバー (株) が直接輸入・販売致しております。ご注文・お問い合わせは下記までご連絡下さい。

**TEL: 045-474-9340      FAX: 045-474-9341**

### 《非売品》

CRJ LETTERS Vol.10 No.1

この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発行日：平成9年6月

発行所：日本チャールス・リバー株式会社  
〒222 横浜市港区新横浜 2-3-8

東伸24新横浜ビルB-4階

電話 045 (474) 9340

企画・編集：日本チャールス・リバー株式会社

制作：株式会社 オービックO.A



日本チャールス・リバー株式会社

●弊社の英文社名は **Charles River Japan, Inc.** です。

動物についてのお問合せ、ご注文先

国内飼育動物 ☎045(474)9350 ファックス045(474)9351  
輸入動物 ☎045(474)9340 ファックス045(474)9341