

Ovalbumin으로 감작된 기니픽에서 Allergen 흡입으로 인한 즉시형 기관지 수축반응에 대한 비침습적 측정*

고려대학교 의과대학 내과학교실

김제형, 심재정, 이승룡, 권영환, 이소라, 이상엽, 조재연, 인광호, 유세화, 강경호

= Abstract =

Early Bronchoconstriction After Allergen Challenge of Nonanesthetized Guinea Pigs

Je Hyeong Kim, M.D., Jae Jeong Shim, M.D., Sung Yong Lee, M.D.,
Young Hwan Kwon, M.D., So Ra Lee, M.D., Sang Youb Lee, M.D.,
Jae Youn Cho, M.D., Kwang Ho In, M.D., Se Hwa Yoo, M.D., Kyung Ho Kang, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea

Background : Bronchial asthma is a complex disease, which is characterized by spontaneous exacerbations of airway obstruction and persistent bronchial hyperresponsiveness. Animal models have fallen short of reproducing the human disease, particularly in mimicking the spontaneous and persistent airflow obstruction that characterized in asthma. In animals, airflow obstruction is usually assessed by measuring airflow resistance during tidal breathing under such invasive technique as tracheostomy and anesthesia. A noninvasive technique for measuring pulmonary function in small animals is needed to evaluate long-term changes in lung function during the course of experimentally produced disease without sacrificing the animal.

Purpose : The purpose of this study was to evaluate early bronchoconstriction after allergen challenge and airway responsiveness (AR) to inhaled methacholine in nonanesthetized, unrestrained guinea pigs.

Method : Guinea pig model of asthma was sensitized by subcutaneous injection with ovalbumin and challenged by inhalation of aerosolized ovalbumin(1% wt/vol ovalbumin). Airflow obstruction of conscious guinea pig was measured as specific airway resistance (airway resistance \times thoracic gas volume). Airway resistance and thoracic gas volume of conscious guinea pig were assessed by body plethysmography before challenge and at regular intervals for as long as 30 minutes after challenge. AR to aerosolized methacholine of asthma group was compared with that of control group in body plethysmography.

*본 연구는 (주)동아제약의 지원에 의하여 이루어진 것임

Result : Asthma models developed in 13 (65%) among 20 guinea pigs, in which early responses occurred in the airways after the exposure to inhalation with ovalbumin. Airway challenge with ovalbumin caused increase in specific airway resistance, which peaked at 6 minutes and amounted to a $231.5 \pm 30.4\%$ increase from baseline. AR to aerosolized methacholine of asthma model increased significantly compared with control group.

Conclusion : These results have showed a useful animal model to evaluate early bronchoconstriction after allergen challenge and airway responsiveness in nonanesthetized, unrestrained guinea pigs.

Key words : Animal asthma model, Specific airway resistance, Animal body plethysmography

서 론

기관지 천식은 다양한 유발인자에 대하여 기관지 과민 반응을 특징으로 하는 기도질환으로, 자연히 혹은 약물로 소실되는 전반적인 기도의 수축과, 병리적으로 임파구, 호산구, 비만세포 (mast cell)의 침윤을 동반하고 기도 벽의 표피 박탈과 비후를 보이는 만성 염증성 질환이다¹⁾. 천식의 발병과 악화의 병인에 대한 연구는 사람에서 임상적으로 시행하는 데에는 한계가 있기 때문에, 동물 천식 모형을 이용한 연구가 필요한데²⁾, 동물 천식 모형은 자연히 발생된 모형, 증상은 없으나 기도 과민 반응이 존재하는 모형 및 실험실에서 유발시킨 모형 등의 세 가지로 구분할 수 있다. 그러나 자연히 발생하는 모형은 발견하기가 어려워, 대부분 실험실에서 유발하는 천식 모형을 이용하여 그 병인을 연구하고 있다³⁾. 대체로 동물 천식 모형은 allergen을 피하 주사 또는 복강 내 주사하여 감작시키거나 노출시키는 방법을 흔히 사용하고 있으나, 사람에서 발생하는 천식은 주로 흡입으로 인하여 감작, 노출되므로 그 경로에는 많은 차이가 있다. 천식에서 발생하는 기도 과민 반응은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 즉시형 기관지 수축은 allergen을 흡입한 후 15~30분 이내에 발생되어 약 2시간 동안 지속되는 반응으로 주로 비만 세포에서 분비되는 기관지 수축 물질에 의하여 발생하는 것으로 알려져 있고, 지연형 기관지 수축은 아토피성 천식의 약 60%에서 동반되며 allergen을 흡입한 후 6~12시간에 발생하여 2~3일 후에 소실되는 반응이다¹²⁾. 동물에게 있어서 이 두 가지 유형의 반응은 allergen에 감작된 동물들

(개, 원숭이, 양, 기니피그 등)에서 allergen으로 유발된 기도 수축의 호흡 역학적 측정과 세포 병리학적으로 관찰 등을 토대로 연구되었다⁴⁾. 동물 천식 모형에서 기관지 수축 반응의 정도를 측정하는 방법으로는 전신 또는 부분 마취 하에 침습적으로 측정하는 방법^{5,6)}과 비침습적인 방법이 있는데^{7~13)}, 침습적인 방법은 실험에 있어서 여러 조작이 필요하고, 이러한 조작들이 기관지 수축의 변화에 영향을 줄 수 있는 것으로 알려져 있어^{10,14)}, 최근에는 감작된 동물의 allergen에 대한 기관지 수축 정도를 포함한 폐기능 검사를 마취 없이 의식이 존재하는 상태에서 검사하는 방법이 이용되고 있다^{9~13)}. Pennock 등은 동물의 기도 저항을 두부와 흉부로 나누어진 체적기록법(Plethysmography)으로, 두 chamber에서 기록된 공기 기류의 위상차(phase displacement)를 이용하여 specific 기도 저항을 측정할 수 있는 것으로 보고하였다⁹⁾.

이에 본 연구는 기니피크에 allergen인 ovalbumin을 피하 주사하여 감작시킨 후, 의식이 있는 상태에서 ovalbumin과 methacholine을 각각 흡입시켜, 비침습적 방법으로 specific 기도 저항을 측정함으로써 즉시형 기관지 수축 정도와 methacholine에 대한 기도 과민성의 변화를 연구하여 동물 천식 모형을 만들고자 하였다.

방 법

1. 대상군 설정 및 ovalbumin의 감작

200gm 내지 250gm의 기니피크 30마리를 각각 천식

군 20마리(asthma group)와 대조군 10마리(control group)로 나누어 실험하였다. 천식군은 생리 식염수에 녹인 1mg의 ovalbumin과 200mg의 aluminum hydroxide를 7일 간격으로 2회 (연구 1일, 7일) 피하 주사하여 감작시켰고, 대조군은 ovalbumin과 aluminum hydroxide 대신에 2ml의 생리 식염수를 7일 간격으로 2회 (연구 1일, 7일) 피하 주사하였다.

2. 기관지 천식의 유발과 specific 기도 저항의 측정

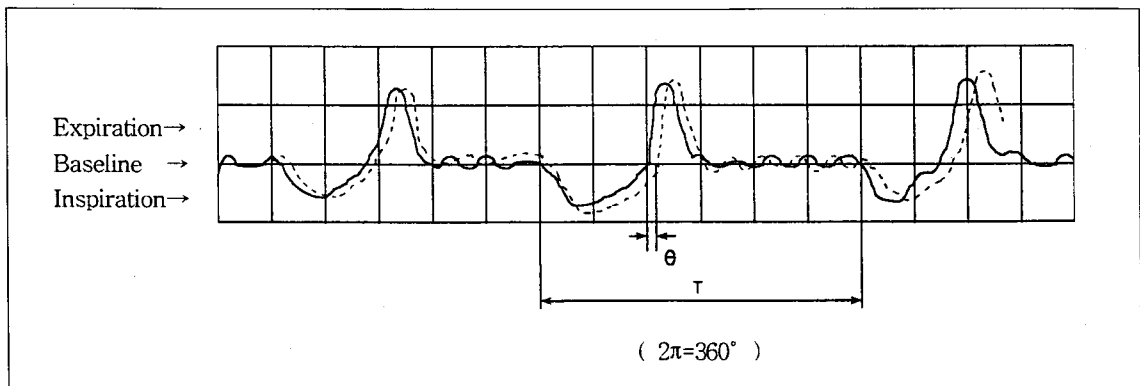
피하주사가 끝난 후 7일(연구 14일)째에 마취나 삽관 없이, 의식이 있는 상태에서 머리 부분과 몸통 부분으로 나뉘어진 두 chamber로 구성된 animal plethysmography box⁹⁾인 Pulmodyn (Hugo Sachs Elektronik 社)을 이용하여 allergen 노출 후의 specific 기도 저항을 측정하였다. 천식군에서 기관지 천식의 유발은, 0.9% 생리식염수에 섞은 1% wt/vol의 ovalbumin을 Pulmodyn내에서 기관지 유발 검사기로 머리 부분 chamber의 부피 975cm³에 30초간 분무하여 유도하였고, 대조군에서는 ovalbumin 대신에 0.9% 생리식염수를 천식군과 같은 방법으로 30초간 분무시켰다. 분무는 Pari nebulizer 기기로 1.5기압 하에서 분무하였으며, 분무의 크기는 100%가 10 μ m 이하였고, 그 중 60%가 2.5 μ m 이하였다. 기

관지 수축으로 발생된 specific 기도 저항은 Pulmodyn에서 두부와 체부의 기류 곡선을 측정하여, 흡기 말에서의 두 곡선간의 위상차(θ), $\tan\theta = \Omega \times R \times C$ (θ : phase displacement, Ω : $2\pi \times$ respiration rate, $R \times C$: time constant of respiratory system, C : thoracic gas volume(V)/(Patm-47mmHg)) 이고, specific 기도 저항, $R \times V = (Patm - 47) \times 13.6 \times \tan\theta / 2\pi f$ (R : airway resistance, Patm: pressure of atmosphere, f : respiration rate)라는 Pennock법을 이용하여 측정하였다⁹⁾. specific 기도 저항은 연속적으로 측정하여 4초 간격으로 컴퓨터에 결과를 저장하였으며, ovalbumin이나 생리식염수 분무 전 3분에서 분무 후 27분까지 3분 간격으로 평균 specific 기도 저항을 기록하여, 분무후 시간에 따른 대조군과 천식군 간의 차이를 비교하였다. 천식군에서 ovalbumin 분무 후, 30분내에 specific 기도 저항의 변화가 150% 이상 증가한 경우에 기관지 천식이 유발되었다고 판정하였으며, 150% 이상 되지 않거나 오히려 감소된 경우는 천식군에서 제외하였다.

3. Methacholine을 이용한 기도 과민 반응의 측정

Pari nebulizer를 머리부분 box에 연결하여 압축 혼합 공기 1.5기압으로 생리 식염수와 methacholine을 분무하여 자발적 호흡으로 30초간 노출시켰다.

Full line : thoracic flow / Dashed line : nasal(head) flow



Methacholine은 0.0625mg/ml의 농도에서 부터 지속적으로 2배씩 농도를 증가하여 32mg/ml의 농도까지, 각 농도에 대하여 3분 간격으로 흡입시켰다. Specific 기도 저항은 methacholine 분무직후 연속하여 3분 동안 측정하여 methacholine 흡입 전 생리 식염수를 분무하여 얻은 specific 기도 저항을 기준으로 200% 이상 증가될 때의 methacholine 농도를 methacholine의 EC_{200R_L} 이라 하였다¹⁶⁾.

4. 통계적 분석

두 군간의 specific 기도 저항의 비교는 t-test로 하였으며, methacholine에 대한 기관지 과민반응의 비교는, methacholine의 농도가 2배씩 증가하므로, 각각의 methacholine 농도에 \log_2 를 취한 후, 이 값으로 구한 기하평균(geometric mean)을 이용하여 그 정도를 비교하였다.

결 과

1. 천식 모형에서 ovalbumin의 흡입으로 인한 specific 기도 저항의 변화

천식군은 20마리 중 13마리에서 ovalbumin에 대해 150% 이상의 기관지 수축반응이 일어났으며, 7마리

는 기관지 수축반응이 150% 이하로 증가하였거나, 반응이 없어 천식 모형이 형성되지 않았다. 따라서 본 연구에서 천식 모형은 20마리 중 13마리로 65%에서 형성되었다.

천식 모형이 형성된 13마리에서 specific 기도 저항은 ovalbumin을 흡입한 후 3분부터 증가하여 6분에 231.5%로 최고를 보였고, 그후 18분까지는 specific 기도 저항이 점차 감소하였으나 18분부터 실험 측정 종료 시(30분)까지 유의하게 증가된 상태로 지속되었다($p < 0.001$). 반면에 생리식염수를 흡입한 대조군에서는 생리식염수 흡입에 대한 specific 기도 저항의 변화가 없었다($p > 0.1$)(Table 1, 2)(Fig. 1).

2. 천식 모형의 methacholine에 대한 기관지 과민 반응 검사 결과

대조군의 methacholine에 대한 기관지 과민 반응은 EC_{200R_L} 가 0.125mg/ml부터 1.0mg/ml로 평균 0.446 ± 0.287 mg/ml였으며, 기하평균은 -1.429 ± 0.976 이었다. 천식군은 기니피 20마리 중에서 천식 모형이 형성된 13마리를 대상으로 EC_{200R_L} 를 측정할 결과 0.0625mg/ml부터 0.25mg/ml로 평균 0.149 ± 0.075 mg/ml였으며, 기하평균은 -2.923 ± 0.760 이었다. 따라서 천식 모형의 methacholine에 대한

Table 1. The effects of saline (control group) and 1% wt/vol ovalbumin (asthma group) challenge on specific airway resistance (mmHg \times Sec)

	time after challenge(min)										
	-3	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control											
mean	7.22	7.61	7.89	7.67	7.04	7.13	7.28	7.35	7.60	7.68	7.60
+SE	0.45	0.76	0.58	0.61	0.57	0.79	0.80	1.02	1.31	1.24	1.31
Asthma											
mean	7.60	16.73	17.36	14.00	12.94	12.39	11.12	11.50	11.28	12.99	13.26
+SE	0.43	2.04	2.12	1.71	1.57	1.51	1.16	1.12	1.18	0.98	1.15

Table 2. The percent change of specific airway resistance on both groups after nebulizer challenge(%)

	time after challenge(min)										
	-3	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
Control											
mean	100.0	104.8	110.1	106.7	97.9	101.8	106.7	108.9	108.1	110.5	108.1
+SE	00.0	6.2	6.0	6.0	5.2	8.7	9.3	9.5	10.1	11.7	10.1
Asthma											
mean	100.0	220.2	231.5	185.5	171.1	165.6	151.6	158.6	154.1	168.1	171.4
+SE	00.0	26.1	30.4	20.0	16.0	14.4	13.3	11.5	11.4	12.3	14.3

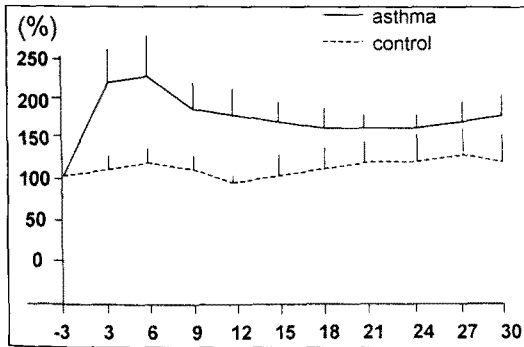


Fig. 1. The percent change of specific airway resistance on both groups after ovalbumin challenge (— : mane ± SE).

기관지 과민 반응은 대조군보다 2배 높았다($p < 0.0013$)(Table 3).

고 찰

기관지 천식은 여러가지 allergen에 대해 가역적인 기관지 수축과 과민 반응을 일으키는 만성 염증성 질환으로 분류된다¹⁾. 다양한 정도의 단핵 세포, 호산구의 침윤과 기관지 벽의 표피박탈, 과도한 점액의 분비 및 기도 평활근의 비후, 표피하층의 섬유화를 동반한 기도의 재형성을 특징으로 하며, 이 과정에서 여러 가지 염증 매개 물질과 각종 cytokine이 관여하는 것으

Table 3. Methacholine bronchial hyperresponsiveness in animal asthma model

Group	Control	Asthma
EC ₂₀₀ R _L	0.446	0.149
(Mean ± SE)	±0.287	±0.075
EC ₂₀₀ R _L	-1.429	-2.923*
(Geometric Mean ± SE)	±0.976	±0.760

* $p < 0.0013$

로 알려져 있다⁴⁾. 천식의 발병기전에 대한 다양한 연구에도 불구하고 그 병인의 상당부분은 아직도 명확하지 않으며, 최근에는 초기 발병 기전과 그 과정에 있어서 유전적 요소 및 환경적 요소의 역할에 관한 연구, 지속적인 증상과 만성 염증의 발생 기전에 관한 연구, 그리고 천식의 치료와 예방에 관한 연구가 진행되고 있다⁴⁾. 그러나 기관지 천식의 병인에 대한 연구를 사람에게서 임상적으로 시행하는 데에는 한계가 있기 때문에 동물 천식 모형을 이용한 연구가 진행되고 있으며, 그 모형들은 자연히 발생된 모형, 증상 없이 기도 과민반응만 존재하는 모형, 그리고 실험실에서 유발한 모형 등으로 구분할 수 있다. 그러나, 천식이 자연히 발생하는 동물이나 증상 없이 기도 과민반응만 존재하는 동물은 발견하기가 어렵고, 천식을 유지하는 데에 제약이 많아 주로 실험실에서 천식을 유발한 동물 모형이 그 병인에 대한 연구에 이용되고 있다⁵⁾. 실

협실에서 유발하는 동물 천식 모형은 크게 알레르기성 allergen에 의한 유발과 비알레르기성 allergen에 의한 유발로 나눌 수 있는데, 대부분 allergen을 피하주사 또는 복강내 주사하여 감각, 노출시키는 방법이 사용되고 있다. 감각에 주로 이용되는 알레르기성 allergen은 ovalbumin과 Ascaris suum이고, 면역보강제는 aluminum hydroxide와 Bordetella pertussis 등이 주로 이용된다^{5,12,17,18}). 그러나 인간에서 알레르기성 allergen에 대한 감각과 노출은 allergen을 흡입함으로써 이루어지는 것으로 알려져 있어 최근에는 흡입으로 감각, 노출시키는 방법이 시도되고 있다¹²). 본 연구에서 감각에 이용된 allergen은 ovalbumin이며, 면역보강제로는 aluminum hydroxide를 이용하여 알레르기성 allergen을 피하 주사하는 방법으로 감각시키고 ovalbumin의 흡입으로 기관지 천식을 유발시켰다.

천식은 가역적 기도 수축을 특징으로 하는 질환으로, 동물 천식 모형에서도 기도 저항을 포함한 폐기능을 측정하여 천식 발생 여부를 판단할 수 있다. 폐기능의 측정방법으로는 전신 또는 부분 마취 하에 침습적인 방법으로 기관지 수축 정도를 측정하는 방법^{5,6}) 이 보편적으로 이용되어왔으나, 실험에 있어서 마취를 포함한 여러 조작이 필요하고 이러한 마취나 조작들이 기관지 수축의 변화에 영향을 줄 수 있어^{10,14}), 최근에는 비침습적이고 마취가 필요 없는 동물 body plethysmography를 이용한 폐기능 측정이 천식 연구에 이용되고 있다^{6,9~13}). 동물에서 기관지 수축의 측정, 인간에서 실시하는 자극에 대한 노력성 호기시의 측정과는 다르게 일상 호흡(tidal breathing) 동안에 기류의 저항을 측정하는데, 이 방법에는 2가지 문제점이 있다. 첫째는 입을 크게 하여 기관 상부 기도 저항(supratracheal airway resistance)을 작게 하는 인간의 기도 저항보다 코로 숨을 쉬는 동물에서의 기도 저항이 실제보다 크게 나타난다^{5,19})는 점이고, 둘째는 동물에서의 폐저항(pulmonary resistance)은 기류가 발생하는 기도의 저항보다 폐조직(tissue viscance)으로부터의 저항이 인간보다 많은 부분을

차지한다는 것이다^{19,20}). 최근에 이런 문제점을 해결하기 위하여 기류의 저항을 식도와 흉막내에 삽입된 카테타를 이용하여 dynamic compliance와 폐저항을 측정하는 방법^{5,8,19})이 사용되고 있으나 침습적이고 여러 가지 조작이 필요한 단점이 있다. 이에 반하여 본 연구에서 사용한 animal plethysmography box (Hugo Sachs Elektronik 社)는 마취 없이 자발적 호흡 하에서, 기류의 두부와 체부 표면에 대한 oscillation 및 이에 있어서의 위상차를 이용하여 specific 기도 저항과 dynamic compliance 등을 측정할 수 있는 방법으로, Pennock 등⁹)은 흉강내 카테타를 이용하여 측정된 폐저항⁹과 좋은 상관관계($r=0.81$)가 있다고 보고한 바 있다. Pennock 법에서 이용되는 plethysmography는 두부와 체부가 목부분에서 고무로 된 collar에 의해 두 chamber로 나뉘어져 있어, 실험 동물의 자발적 호흡 시에 두부와 체부의 기류 곡선과 두 곡선 사이의 위상차를 얻을 수 있고, 측정된 위상차가 크면 클 수록 기도 저항(airway resistance)은 증가하는 것을 이용하여 specific 기도 저항을 측정할 수 있다⁹).

기니피크는 오랜 기간동안 allergen 노출에 대한 즉시형 및 지연형 기관지 수축의 연구에 유용한 동물로¹²), 기니피크 천식 모형에서는 감각의 방법에 따라 다소의 차이는 있지만 allergen으로 ovalbumin을 피하 주사로 감각시킨 후, 흡입으로 노출시킬 경우 즉시형 기관지 수축 반응(early bronchoconstriction)은 보통 5분 이내에 발생하여 2시간 정도 지속되고, 2시간이 경과한 후에는 정상으로 회복되며, 지연형 기관지 수축반응(late bronchoconstriction)은 ovalbumin 흡입 후 72시간에 발생하는 것으로 알려져 있다¹²). 본 연구에서도 specific 기도 저항이 ovalbumin 흡입 후 3분부터 증가하여, 6분에 최고를 이루고 이후 18분까지 점차 감소하여, 18분부터 실험측정 종료 시까지 증가된 상태로 지속되어, 즉시형 기관지 수축 반응이 유발된 기니피크 천식 모형이 형성되었다.

기도 과민 반응은 기관지 천식에서 중요한 특징으로 Bellofiore 등²¹)은 ovalbumin과 Bordetella pertus-

sis로 감작된 쥐에게 5% ovalbumin 분무를 5일 간격으로 6회 흡입시켰을 때 allergen에 대한 천식유발이 10마리 중 7마리에서 관찰되었으며, methacholine에 대한 기관지 과민 반응은 2배로 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 천식 모형이 형성된 13마리를 대상으로 methacholine에 대한 $EC_{200}R_L$ 를 측정한 결과 0.0625mg/ml부터 0.25mg/ml로 평균은 0.149 ± 0.075 mg/ml, 기하평균은 -2.923 ± 0.760 으로 나타나 천식 모형에 있어서 methacholine에 대한 기관지 과민 반응이 대조군에서보다 2배 높게 관찰되었다($p < 0.0013$).

이상의 결과, 기니피에게 allergen인 ovalbumin을 피하 주사하여 감작시킨 다음 ovalbumin을 흡입시킨 후, 즉시형 기관지 수축에 있어서의 specific 기도 저항을 의식이 있는 상태에서 body plethysmography를 이용하여 비침습적으로 측정한 결과, 65%에서 천식 모형이 형성되었고, 형성된 천식 모형에서의 methacholine에 대한 기도 과민성은 2배 증가하였다.

요 약

연구배경 :

기관지 천식은 다양한 원인에 대한 기도 협착과 과민 반응을 특징으로 하는 기도 질환으로, 그 병인에 대한 연구를 임상적으로 시행하는 데에는 한계가 있어, 동물 천식 모형을 이용한 연구가 필요하다. 동물에서의 기도 저항의 측정은 주로 마취나 삼관 상태에서 침습적으로 측정되었으나, 최근 비침습적으로 의식이 있는 상태에서 일상호흡 중의 specific 기도 저항을 측정하는 방법들이 고안되었다. 이에 저자들은 기니피에 allergen인 ovalbumin을 피하 주사하여 감작시킨 후, 의식이 있는 상태에서 ovalbumin과 methacholine을 각각 흡입시켜, 비침습적인 방법으로 specific 기도 저항을 측정함으로써 즉시형 기관지 수축 정도와 methacholine에 대한 기도 과민성의 변화를 연구하여 동물 천식 모형을 만들고자 하였다.

연구방법 :

기니피 30마리를 천식군 20마리, 대조군 10마리로 나누어, 천식군에서는 ovalbumin을 피하 주사하여 감작시킨 후, ovalbumin을 흡입(1% wt/vol)으로 노출시켰고, 대조군은 생리 식염수를 동일한 방법으로 감작, 노출시켰다. specific 기도 저항(airway resistance \times thoracic gas volume)은 의식이 있는 상태에서 비침습적으로 동물 body plethysmography를 사용하여, Pennock법으로 allergen 노출 3분전부터, 노출후 27분까지 3분 간격으로 30분간 측정하였다. Methacholine은 지속적으로 2배씩 농도를 증가하여, 각 농도에 대하여 3분 간격으로 흡입시킨 후, 동일한 방법으로 specific 기도 저항을 측정하여 기도 저항이 200% 이상 증가될 때의 methacholine 농도($EC_{200}R_L$)를 구하였다.

결 과 :

천식군 20마리 중 65%인 13마리에서 ovalbumin 흡입에 대한 specific 기도 저항이 3분부터 증가하여 6분에 231.5%로 최고를 보이고 실험 측정 종료까지인 30분까지 대조군에 비하여 유의하게 증가된 상태로 지속되어($p < 0.001$), 천식 모형이 형성되었다. Methacholine에 대한 기관지 과민 반응은 $EC_{200}R_L$ 가 대조군에서 평균 0.446 ± 0.287 mg/ml, 기하평균 -1.429 ± 0.976 였고, 천식군에서 형성된 천식 모형에서의 평균은 0.149 ± 0.075 mg/ml, 기하평균 -2.923 ± 0.760 으로 천식 모형에 있어서 methacholine에 대한 기관지 과민 반응이 대조군에서보다 2배 높았다($p < 0.0013$).

참 고 문 헌

1. Murray JF, Nadel JA : Chapter 40, Asthma, In Woolcock AJ, Textbook of Respiratory Medicine. 2nd ed., p 1289, Philadelphia, Saunders, 1994
2. Larsen GL, Colasurdo GN : Animal models of asthma. In Crystal RG, West JB, Barnes PJ, Weibel ER, eds : The Lung Scientific Founda-

- tions. 2nd ed., p1315, Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997
3. Hirshman CA, and Downes H : Experimental asthma in animals. In Weiss EB, Stein M (eds.) : *Bronchial Asthma, Mechanisms and Therapeutics*. 3rd ed., p382, Toronto, Little Brown & Co, 1993
 4. Chung KF : Usefulness of animal models in asthma research. *Eur Respir Rev* 5 : 29, 184, 1995
 5. Amdur MO, Mead J : Mechanics of Respiration in Unanesthetized Guinea Pigs. *Am J Physiol* 192(2) : 364, 1958
 6. Morley J, Chapman ID, Hoshiko K, Mazzoni L : Acute airway hyperreactivity in the guinea-pig. *Eur Respir Rev* 5 : 29, 202, 1995
 7. Pride NB : Measurement of airflow obstruction in animals. *Eur Respir Rev*. 5 : 29, 188, 1995
 8. Morley J, Chapman ID, Hoshiko K, Mazzoni L : Acute airway hyperreactivity in the guinea-pig. *Eur Respir Rev* 5 : 29, 202, 1995
 9. Pennock BE, Cox CP, Rogers RM, Cain WA, Wells JH : A noninvasive technique for measurement of changes in specific airway resistance. *J Appl Physiol : Respirat Environ Exercise Physiol* 46(2) : 399, 1979
 10. Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, Gelfand EW : Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med* 156 : 766, 1997
 11. Johanson WG Jr, Pierce AK : A noninvasive technique for measurement of airway conductance in small animals. *J Appl Physiol* 30(1) : 146, 1971
 12. Hutson PA, Church MK, Clay TP, Miller P, Holgate ST : Early and Late-Phase Bronchoconstriction After Allergen Challenge of Nonanesthetized Guinea Pigs. *Am Rev Respir Dis* 137 : 548, 1988
 13. Agrawal KP : Specific airway conductance in guinea pigs : normal values and histamine induced fall. *Respiration Physiology* 43 : 23, 1981
 14. Holtzmann MJ, Hahn HL, Sakai K, Skoogh BE, Graf PD, Fabri LM, Nadel JA : Selective effect of general anesthetics on reflex bronchoconstrictor response in dogs. *J Appl Physiol* 53 : 126, 1982
 15. Sapienza S, Du T, Eidelman DH, Wang NS, Martin JG : Structural Changes in the Airway of Sensitized Brown Norway Rats after Antigen Challenge. *Am Rev Respir Dis* 144 : 423, 1991
 16. Renzi PM, Sapienza S, Du T, Wang NS, Martin JG : Lymphokine-induced Airway Hyperresponsiveness in the Rat. *Am Rev Respir Dis* 143 : 375, 1991
 17. Pretolani M, Lefort J, Vargaftig BB : Active Immunization Induces Lung Hyperresponsiveness : Pharmacologic Modulation and Triggering Role of the Booster Injection. *Am Rev Respir Dis* 138 : 1572, 1988
 18. Stotland LM, Share NN : Active Bronchial Anaphylaxis in the Rat. *Can J Physiol Pharmacol* 52 : 1114, 1974
 19. Pride NB : Measurement of airway obstruction in animals. *Eur Respir Rev* 5 : 29, 188, 1995
 20. Nagase T, Martin JG, Ludwig MS : Comparative study of mechanical interdependence : effect of lung volume on airway resistance during induced constriction. *J Appl Physiol* 75 : 2500, 1993
 21. Bellofiore S, Martin JG : Antigen challenge of sensitized rats increases airway responsiveness to methacholine. *J appl Physiol* 65 : 1642, 1988