마우스 천식 모델의 유용성 및 한계

중앙대학교 의과대학 소아과학교실

이 동 근

Usefulness and Limitation of Mouse Asthma Model

Dong-Keun Lee, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

서 론

전 세계적으로 그 발생률이 증가하고 있는 비결막염 및 천식을 비롯한 알레르기성 질병에 대한 이해는 동물모델을 사용한 연구로부터 많이 얻어지고 있다. 동물모델을 사용한 연구를 통해 알레르기의 바탕인 면역학적 기전에 대한 이해가 가능하게 되었을 뿐만 아니라, 개발 중인 치료제의 평가도 가능하게 되었다. 그러한 예로서 이제는 중요한 치료제로서 사용되고 있는 류코트리엔 수용체 길항제의 경우, 유용성의 평가는 기니픽(guinea pig)을 사용한 천식 동물모델 연구를 통해 이루어졌다[1]. 현재 천식 모델로 가장 널리 사용되고 있는 실험동물은 마우스로서 형질전환 동물 및 유전자적중 동물을 얻기가 용이하며, 면역학적 및 분자생물학적 연구에 사용 가능한 단클론항체를 비롯한 특정 시약 등의 이용이 다른 동물에 비해 쉽다는 점이 이용을 촉진시키고 있다[2].

한편 마우스 뿐만 아니라 기니픽, 면양을 비롯한 다른 동물 종도 천식의 연구에 사용되고 있는데, 본 논문에서는 마우스를 사용한 천식 연구, 특히 난백알부민을 항원으로 사용한 모델에 대해 방법론, 특징 및 현재까지의 연구결과에 대해 기술하고, 다른 동물 종을 사용한 연구에 대해서도 간략히 기술하고자 한다.

마우스 천식 모델의 제작

1. 마우스에서 난백알부민을 사용한 천식 유발 방법

천식 모델 동물로서의 마우스 이용에는 몇 가지 장점이 있다(Table 1). 이러한 마우스를 천식 모델로 만들기 위한 첫 단계는 감작 및 유발을 시켜야 한다. 다양한 감작 및 야기 방법이 사용되고 있지만, 일반적으로 난백알부민(ovalbumin)을 alum과 함께 혼화하여 1-2회 복강주사를 통하여 감작시킨 후, 비강내(intranasal)[3] 또는 기관내(intratracheal)[4]로 직접 항원을 반복 적용하여 야기하거나, 항원을 에어로졸[5]로 만들어 흡입시켜서 폐에 국소적으로 야기하는 방법이 널리 사용된다. 또한 연구자에 따라 *Dermatophagoides pteronyssinus*(Der p 1)을 항원으로 사용하기도 한다. 이러한 방법들은 연구자들에 따라 항원의 양, 감작 및 야기의 횟수 및 기간에 약간의 차이가 있으며 사용되는 마우스의 품종도 BALB/c, C57BL/6, A/J, C3H 등 다양하지만 기본적으로 유전적인 형질이 균일한 근교계 마우스(inbred mouse)를 사용하는 것이 원칙이며, 주로 BALB/c와 C57BL/6 종이 가장 널리 사용된다. 두 품종의 항원에 대한 반응의 차이를 살펴보면 C57BL/6 마우스는 Der p 항원에 대한 IgE 반응이 높은 반면 BALB/c 마우스는 반응이 낮으며, 반대로 난백알부민에 대한 반응은 BALB/c 마우스가 높다[6].

2. 적절한 항원 감작량

감작시키는 항원의 양과 기도 염증 및 기관지 과민반응과의 관계를 연구한 보고에 따르면[7] 0, 10, 100 및 1,000 mg의 난백알부민을 각각 0일, 7일, 14일에 복강투여를 통해 감작 시킨 후 15-20일에 에어로졸로 항원을 야기하여 평가한 결과 1,000 mg으로 감작 했을 때보다 10 mg으로 감작했을 때가 기관지 폐포세척액(bronchoalveolar lavage fluid) 중의 총백혈구 수 및 호산구수가 더 높았으며, 기관지상피의 술잔세포성 증식과 폐조직

Table 1. Advantages of the Mouse Model of Asthma

1. Proximity to human disease(including production of specific IgE antibody, the mast cell, T-lymphocytic and eosinophilic tissue infiltrate, Th2 cytokine pattern, and airway hyperresponsiveness to nonspecific bronchoconstrictor)
2. Ability to study the histopathology of any murine tissue, particularly the bronchoalveolar lavage(BAL), airways, lungs, regional lymph nodes, marrow, serum and blood cells
3. Ability to study the physiology of murine airway
4. Availability of antibodies and reagents specific to the mouse
5. Availability of genetically engineered mice(both transgenic and gene knock-out)
6. Ability to evaluate potential therapeutic agents of asthma

접수 : 2003년 9월 5일, 승인 : 2003년 9월 16일
책임저자 : 이동근, 중앙의대 필동병원 소아과
Tel : 02)2260-2405 Fax : 02)2273-5703
E-mail : zf41643@netsgo.com

중 염증세포 침윤의 정도도 더 심하였고, 메타콜린(methacholine)에 대한 기도과민반응도 더 증가하였다. 이는 각 실험실의 조건(사용품종, 마우스의 나이, 사육환경, 감작하는 횟수 및 기간 등)에 따라 달라지겠지만, 감작하는 항원의 양이 많을수록 천식의 증상이 증가하는 것이 아니고 적절한 양의 감작이 중요함을 보여준다고 하겠다.

3. 기도과민반응의 측정법

정상적인 마우스에서 기도 반응은 기관평활근의 수축성, 흉벽의 순응도(compliance), 기관지의 점액플러그 형성, 기도 섬유화 등에 달려있다[8]. 기도과민반응(airway hyper-responsiveness, AHR)을 *in vivo* 상태에서 측정하는 방법에는 크게 두 가지 방법이 있다. 첫째는 마취하에서 기관에 삽관을 한 상태에서 기도압력을 측정하는 방법이며, 또 다른 방법은 마취를 하지 않고 자연상태의 운동을 유지하면서 체적변동 측정기(plethysmography)를 사용하여 수학적으로 계산된 기도의 폐색을 반영하는 수치인 enhanced pause(Penh)를 측정하는 방법이다. 첫번째 방법은 수술을 필요로 하는 침습적 방법(invasive method)인 관계로 결과적으로 단시간 동안만 측정가능하며, 측정 후에는 동물을 희생시켜야 한다. 또한 이 경우 기기를 사용하여 호흡을 유지시켜주어야 하기 때문에 적절한 마취의 유지가 필요하며, 마취제가 신경반사에 영향을 줌으로써 기도과민반응의 측정에 영향을 줄 수 있다는 단점이 있다[8]. 두번째 방법은 동물을 보정하거나 마취하지 않은 상태에서 측정하는 비침습적 방법(non-invasive method)으로 동일 동물에 대하여 장시간 또는 반복하여 측정할 수 있다는 장점이 있으며, 단점으로는 측정하는 동안 상부 호흡기도(비강, 인후두 부위)에 분비물이 고임으로 인하여 측정에 장애를 줄 수 있다는 점이 있으나, 그 영향은 크지 않은 것으로 알려져 있으며 최근 널리 사용되고 있다[9].

4. 마우스 천식 모델의 특징

마우스 모델에서는 대부분 천식의 중요한 두 가지 특징인 기관지의 호산구성 염증과 기도 과민반응이라는 표현형이 발현되는데, 항원 야기 후 4시간에 골수중의 호산구수가 증가하며, 4-8시간에 그 수가 최고에 도달한다. 이들 호산구는 폐로 이주하게 되어 야기 3-14일 사이에는 골수중의 호산구수가 감소하게 된다[9]. 폐조직 중 호산구의 침윤은 야기 8시간 후에 시작되어 48시간에 최고에 도달하며, 기관지 세척액 중에는 24시간에 나타나서 2-3일 사이에 최고에 도달하게 된다[10]. 기관지 세척액 중 호중구 수도 항원 야기 8-24시간에 현저히 증가하게 되는데 호중구의 기도 과민반응에 대한 영향은 불분명하다[9]. 이러한 폐의 염증은 야기 후 6주가 지나면 완전히 사라지게 된다[12]. 한편 기도 과민반응은 단회의 항원 야기시에는 24시간 후에 증가하여 48시간 이후에는 정상으로 돌아가지만[9], 3일 연속 야기를 할 경우에는 조기반응이 5분 후에 시작되어 15분 후에 최고조에 도달하고 60분 후에 정상상태로 돌아가며, 후기반응은 3시간 30분 후에 시작되어 6시간 후에 최고도에 도달한 후 8시간 30분 후에 정상치로 돌아가게 된다[12]. 폐의 조직학적인 변화로서는 기관지주변 및 혈관주변의 호산구, 호중구 및 대식세포로 이루어진 염증성 세포의 침윤이 관찰되며, 기관지상피세포의 술잔세포 증식(goblet cell hyperplasia), 기도 내강으로의 점액분비 및 부종소견이 관찰된다[13](Fig. 1, 2).

5. 마우스 품종에 따른 기도과민반응의 차이

최초로 다양한 품종의 근교계마우스를 사용한 기도 반응에 대한 연구는 1988년에 Levitt과 Mitzner[14]에 의해서 이루어졌다. 근교계마우스는 이교계(outbred)와 달리 동일 유전자좌에 동일 allele를 가지고 있어서 이들 집단에서의 표현형의 차이는 환경적인 영향에 의해서만 나타나는데, 이 연구에서 9가지 품종의 마우스에서 아세틸콜린에 대한 기도반응의 차이는 A/J 품종이 가장 과민반응을 나타내었으며, C3H/HeJ 품종이 가장 둔감하였다. 이를 근거로 이들은 기도 과민반응은 유전적으로 결정된다고 주장하였다. 이러한 주장은 6종의 서로 다른 근교계 마우스에서 메타콜린에 대한 기도반응을 측정한 연구에서도 확인되었다[15]. 이러한 차이가 나타나는 이유중의 하나로서 A/J 품종이 C3H/HeJ 품종에 비해 무스카린성(muscarinic) 수용체의 신호전달체

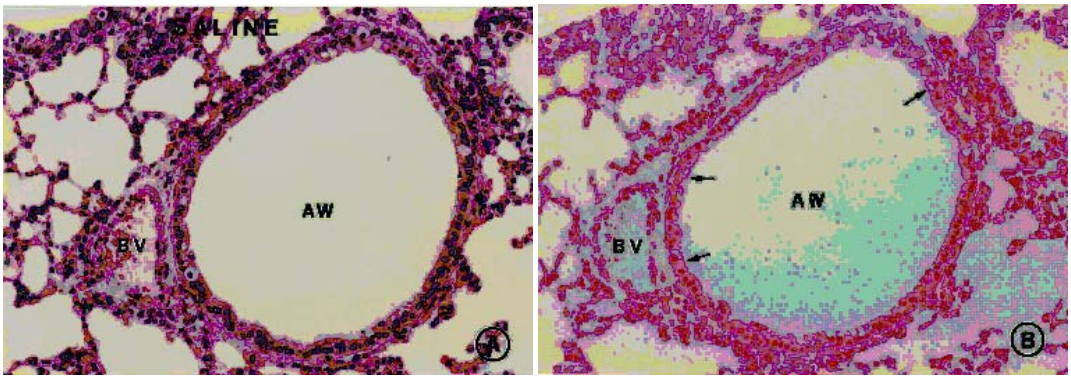

Fig. 1. Lung histopathology of control mice. The alum sensitized/saline-challenged control mice (**A, B**) have airways(AW) and blood vessels(BV) of normal appearance by hematoxylin/eosin staining (**A**). Airway mucus(arrows) is scant in this mice as assessed by alcian blue staining (**B**)(×250).

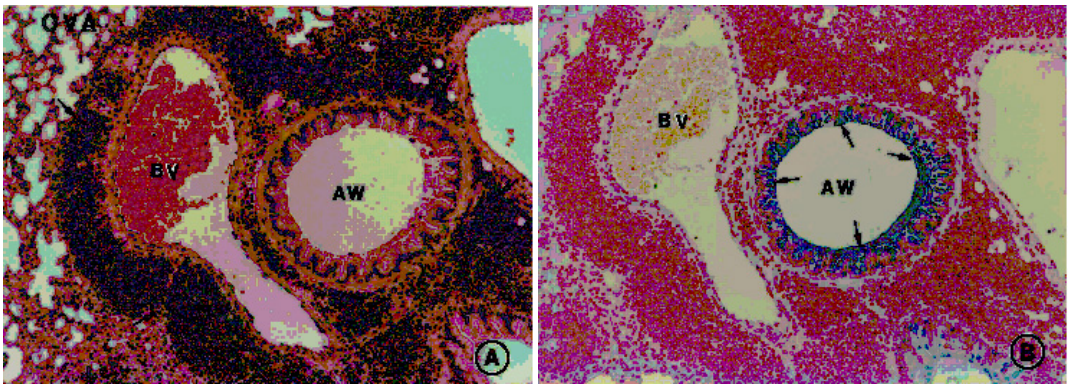

Fig. 2. Histologic evidence of airway inflammation in OVA-treated mice. OVA-sensitized/OVA-challenged mice **(A, B)** have a dense, mixed cellular infiltrate(predominantly eosinophils) in the lung interstitium(arrows) surrounding the airways(AW) and blood vessels(BV) by hematoxylin/eosin staining **(A)**. By alcian blue staining **(B)**, airway goblet cell hyperplasia and mucus release are seen in the OVA-treated mice(×250).

계가 더 발달되어 있는데, 이는 A/J 품종이 무스카린성 수용체 agonist에 대한 친화성이 증가되어 있으며, G protein의 발현이 증가되어 있기 때문이다[16]. 따라서 마우스를 사용한 천식모델연구에서 기도 과민반응에 대한 변화를 측정하고자 한다면 항원의 감작 및 야기 방법 뿐만 아니라 사용하고자 하는 마우스의 품종에 따른 차이를 고려하여야 한다.

6. 유발에 있어서 면역학적인 조건 및 항원의 제시

마우스 천식모델의 경우 감작과 야기에는 반드시 동일한 항원을 사용하여야 하며, 다음과 같은 경우에는 천식이 유발되지 않아야 한다. 첫째, 항원을 사용하지 않은 감작 및 항원을 사용하지 않은 야기시. 둘째, 항원을 사용하지 않은 감작 후 항원을 사용한 야기시. 셋째, 항원을 사용한 감작 후 항원을 사용하지 않은 야기시. 넷째, 특정 항원을 사용한 감작 후 이와 관련이 없는 다른 항원으로 야기시[2]. 또한 면역체계가 정상적으로 유지되고 있어야만 천식이 유발이 되는데, 면역결핍상태에서는 천식이 유발되지 않는다. 또한 자연살세포나 보체와 같은 선천성면역체계도 천식의 반응에 중요하다[17]. 감작 및 야기를 통해 유입된 항원은 수지상세포(dentritic cells), 대식세포(macrophages), B 세포 등과 같은 항원제시세포(antigen-presenting cells, APC)에 의해 처리되어 T 세포가 이를 인식하게 되다. 수지상세포는 기도상피세포의 기저막을 따라서 분포되어 있어서 흡입된 항원을 포획하기가 용이하며, 알레르기성 천식의 가장 중요한 항원제시세포이다[18]. 이 과정에서 주요조직적합복합체(major histocompatibility complex, MHC) class II 분자와 보조자극분자(co-stimulatory molecule)인 B7-1이나 B7-2가 관여한다[19].

7. 마우스 모델 연구를 통한 Th2 세포의 역할 확인

천식성 염증의 병리발생에 있어서 CD4+ T 림프구 및 Th2 사이토카인의 중요성은 마우스를 사용한 연구를 통해 증명되었다. B6D2F1 마우스에 항원을 감작, 야기하면 T 세포가 폐로 이동하여 호산구를 활성화 시키고 분화시키며, B세포와 T세포의 발생에 중요한 IL-4, IL-5의 국소적인 생산에 관여한다. 항원야기 후 기관지세척액 중의 세포를 유세포측정기(flow cytometry)로 감별하였을 때, 야기 후 24시간에는 CD8+ 세포에 비하여 CD4+ 세포가 두 배 정도 증가하며, 48시간에는 CD4+ 세포가 대부분을 차지하게 된다[20]. 또한 난백알부민을 감작시킨 마우스의 비장으로부터 얻은 난백알부민 특이적인 Th2 클론을 감작하지 않은 마우스에 이식하고 항원을 야기하면 기관지세척액 중 IL-5의 증가를 동반하는 호산구성 염증이 유발됨이 밝혀져 Th2 세포의 중요성이 확인되었다[21].

8. B 세포 및 비반세포, IgE에 관한 연구

항원제시세포에 의해 항원이 T 세포에 제시되면 T 세포가 활성화되어 IL-4를 생산하고, IL-4는 B세포에서 IgE를 생산하게 한다. 비반세포 표면의 IgE가 항원과 결합하면 히스타민, 류코트리엔 등 다양한 물질이 비반세포로부터 유리되어 조기 과민반응을 일으키게 되며, 동시에 알레르기성 염증을 촉발하게 된다[22]. B 세포를 결핍시킨 B10.BR 마우스에 난백알부민을 감작 및 야기하였을 경우에 Th2 사이토카인의 분비 및 폐조직의 호산구성 염증은 유발되지만 항원특이 항체 및 기도과민반응 유발되지 않았다. 하지만 항원특이 항체를 이 마우스에 처치하여 주었을 때에는 기도과민반응이 발현되었다. 이는 B세포나 IgE가 Th2 사이토카인 반응이나 호산구성 염증에 필수적인 것이 아님을 의미한다. 한편 W/Wv 변이로 인해 비반세포의 성장에 필요한 W 유전자의 산물이 결핍되어 비반세포가 결핍된 마우스에서도 호산구성 염증 및 기도과민반응이 유발된다고 한다[23]. 이러한 연구결과를 통해서 마우스에서 천식의 발생은 다양한 인자들이 복합되어 일어나며, 그 중에서 한가지 인자가 결핍되거나 차단되는 경우에도 상보적으로 활성화된 대체 경로를 통해 천식의 유발이 가능함을 알 수 있다.

9. 사람에서의 천식과 차이점

말, 면양, 개 및 비인간영장류에서 기도과민성 질병이 발생한다는 보고가 있지만, 기본적으로 천식은 사람에서만 일어나는 질환으로서, 마우스에서는 천식이 자연발생하지 않는다[24]. 사람에서의 천식과 인위적인 항원을 처치하여 유발시킨 마우스에서의 천식과의 가장 큰 차이점은 마우스에서는 기도의 염증이 사람에서처럼 오랫동안 지속되지 않는다는 점이다. 또한 마우스는 사람과 달리 기침반사가 일어나지 않기 때문에 천식의 전형적인 증상인 기침 증상을 나타내지 않는다[25]. 조직병리학적 측면에서 마우스 모델에서도 사람에서도 유사한 혈관주위 및 기관지주변의 호산구성 염증이 재현되지만, 마우스의 경우는 침윤된 호산구의 탈과립 현상이 나타나지 않으며, 사람에서와는 달리 기도상피내에 호산구가 침윤하지 않는다고 한다[26-28]. 마우스 모델에서의 기도과민반응을 측정하는 방법이 임상에서의 기도과민반응을 측정하는 방법과 차이가 있으며, 이로 인해 상호간의 결과 해석을 어렵게 한다. 즉, 사람에서는 거의 대부분 노력성호기량(forced expiratory volume)을 기초로 하여 측정하지만, 마우스에서는 일호흡량(tidal volume)이나 고정호흡량(fixed-volume ventilation)에 기초하여 측정하기 때문이다[29]. 또한 기도과민반응이 평활근의 수축에 기인한다는 사실을 감안하며, 마우스의 기도평활근은 천식의 병리발생에 관련이 있는 류코트리엔, 히스타민, 뉴로키닌, 브라디키닌 등의 매개물질에 반응하지 않는다는 점은 문제점으로 지적되고 있으며, 반대로 마우스에서는 세로토닌이 비반세포에서 유리되는 주된 기관지수축물질 이지만, 사람의 기도는 세로토닌에 반응하지 않으며, 사람의 비반세포에서는 거의 생성되지 않는다는 점도 지적되고 있다[29](Table 2, 3).

10. 기타 천식 동물모델

마우스와 함께 천식연구에 있어서 가장 널리 사용되는 동물은 기니픽이다[29]. 기니픽을 사용한 연구에서도 대부분 마우스에서와 마찬가지로 난백알부민을 항원으로 하여 전신적 감작 및 국소적 야기를 통하여 천식을 유발하는 모델이 대표적으로 사용된다. 난백알부민 유발 기니픽 모델에서는 마우스와 유사하게 호산구성 염증 및 기도과민반응이 유발되며[30], PAF 저해제, phosphodiesterase 저해제, 항히스타민 약물, 5-lipoxygenase 저해제[31] 등의 약효 연구에 많이 사용되고 있다. 기니픽의 경우 마우스에 비하여 상대적으로 크기 때문에 분석을 위한 얻을 수 있는 생체시료의 양이 많다는 장점이 있으나, 마우스에 비하여 사육관리가 어렵고 이용할 수 있는 시약이 한정되어 있다는 단점이 있다. 또한 기니픽의 경우 천식을 유발하는 주요 매개물질이 히스타민으로 알려져 있는데 이는 실제 임상과는 다르다[24].

면양의 경우 주로 *Ascaris suum*에 자연 감염되어 있는 개체에 동일 항원을 폐에 국소적으로 야기하여 유발하게 되는데, 사람과 마찬가지로 항원야기에 대한 초기 및 후기반응을 나타내는 것이 특징적이며, 류코트리엔 수용체 길항제[32], 세포유착분자 억제물질[33], 비반세포의 tryptase 억제제 등 다양한 약리작용을 가진 약물에 대해 치료반응을 나타낸다. 최근에는 사람에서 천식을 일으키는 항원인 집진드기를 항원으로 사용하여 면양에 피하로 감작한 후 폐에 야기하여 천식의 중요한 특징인 IgE 반응 및 호산구성 염증 반응을 재현됨이 보고되었다[34].

랫드의 경우에는 Brown-Norway 품종만이 항원에 대한 기도과민반응을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 일반적으로 기니픽이나 마우스 만큼 널리 사용되지는 않고 있다.

원숭이를 사용한 천식모델의 경우 유전적으로 사람과 가장 가깝고, 자연적으로 사람에서와 유사한 천식을 발현한다는 점에서 관심을 끌고 있는데, 임상적으로 사용하는 기관지확장제, 항알레르기약제, 스테로이드 등이 cynomolgus 원숭이(*Macaca fascicularis*) 천식 모델에서 임상에서와 유사한 약리 작용을 보였다는 보고가 있다[35]. 하지만 원숭이는 특히 한국의 경우 일반 연구자들에게 이용이 극히 제한되어 있어서 실질적인 연구가 힘든

Table 2. Regulation of Airway Smooth Muscle Tone in Humans and Mouse

	Human	Mouse
Contractile agonists		
Muscarinic agonists	Yes	Yes
Leukotrienes	Yes	No
Histamine	Yes	No
Neurokinins	Yes	No
Endothelins	Yes	Yes
Prostanoids	Yes	No
Bradykinin	Yes	No
Serotonin	No	Yes
Autonomic innervation		
Parasympathetic		
Cholinergic	Yes	Yes
Noncholinergic	Yes	No
Sympathetic-Adrenergic	No	No
Cough reflex	Yes	No

Table 3. The Response to Airway Allergen Challenge in Humans and Mouse

	Human	Mouse
IgE-dependent	Yes	No*
Mediators of bronchospasm		
LTC4, LTD4, LTE4	Yes	No
Histamine	Yes	No
Serotonin	No	Yes
Inhibition of eosinophilia		
Leukotriene modifiers	±	Yes
Anti-IL-5	Yes	Yes
PAF antagonists	±	Yes
Corticosteroids	Yes	Yes
Late-phase bronchospasm	Yes	Yes
Increased exhaled NO	Yes	Yes

*Response can be mediated by either IgE or IgG

형편이다.

이외에도 드물게 토끼, 고양이, 개 및 돼지를 이용한 연구도 보고되고 있다.

결 론

난백알부민이나 집먼지 진드기 항원을 사용하여 인위적으로 마우스에서 유발시킨 천식 모델은 폐의 호산구성 염증 및 기도 과민반응이라는 두 가지 측면에 있어서 사람에서의 기관지 천식과 유사하다. 이러한 연구 모델을 사용하여 과거 수 십년간 천식의 병리발생에 관한 많은 이해가 가능하게 되었고, 약물에 대한 반응 연구도 진행되었다. 물론 마우스를 포함한 동물 천식모델이 완벽하게 사람에서의 천식을 재현할 수는 없지만, 임상 연구시의 생체시료의 확보 문제, 윤리 문제 등을 고려할 때 동물 모델을 통한 연구는 이를 해결해 줄 수 있는 대안으로서 가치가 있으며, 향후 추가적인 연구를 통하여 보다 더 임상에서와 가까운 모델이 개발되리라고 기대된다.

참 고 문 헌

1) Aharony D. Pharmacology of leukotriene receptor antagonists. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:S214-9.
2) Pauwels RA, Brusselle GJ, Kips JC. Cytokine manipulation in animal model of asthma. Am J Respir Crit Care Med 1997;156:S80-1.
3) Henderson WR Jr, Chi EY, Maliszewski CR. Soluble IL-4 receptor inhibits airway inflammation following allergen challenge in a mouse model of asthma. J Immunol 2000; 164:1086-95.
4) Keane-Myers AM, Gause WC, Finkelman FD, Xhou XD, Wills-Karp M. Development of murine allergic asthma is dependent upon B7-2 costimulation. J Immunol 1998;160: 1036-43.
5) Wolyniec WW, De Sanctis GT, Nabozny G, Torcellini C, Haynes N, Joetham A, et al. Reduction of antigen-induced airway hyperreactivity and eosinophilia in ICAM-1-deficient mice. Am J Respir Cell Mol Biol 1998;18:777-85.
6) Herz U, Lumpp U, Da Palma JC, Enssle K, Takatsu K, Schnoy N, et al. The relevance of murine animal models to study the developmentof allergic bronchial asthma. Immunol Cell Biol 1996;74:209-17.
7) Sakai K, Yokoyama A, Kohno N, Hiwada K. Effect of different sensitizing doses of antigen in a murine model of atopic asthma. Clin Exp Immunol 1999;118:9-15.
8) De Sanctis GT, Daheshia M, Daser A. Genetics of airway hyperresponsiveness. J Allergy Clin Immunol 2001;108:11-20.
9) Tomkinson A, Cieslewicz G, Duez C, Larson KA, Lee JJ, Gelfand EW. Temporal association between airway hyperresponsiveness and airway eosinophilia in ovalbumin-sensitized mice. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:721-30.
10) Yiamouyiannis CA, Schramm Cm, Puddington L, Stengel P, Baradaran-Hosseini E, Wolyniec WW, et al. Shifts in lung lymphocyte profiles correlate with the sequential development of acute allergic and chronic tolerant stages in a murine asthma model. Am J Pathol 1999;154:1911-21.
11) Kung TT, Jones H, Adams GK 3rd, Umland SP, Kreutner W, Egan RW, et al. Characterization of a murine model of allergic pulmonary inflammation. Int Arch Allergy Immunol 1994;105:83-90.
12) Cieslewicz G, Tomkinson A, Adler A, Duez C, Schwarze J, Takeda K, et al. The late, but not early, asthmatic response is dependent on IL-5 and correlates with eosinophil infiltration. J Clin Invest 1999;104:301-8.
13) Oh SW, Pae CI, Lee DK, Jones F, Chiang GK, Kim HO, et al. Tryptase inhibition blocks airway inflammation in a mouse asthma model. J Immunol 2002;168:1992-2000.
14) Levitt RC, Mitzner W. Expression of airway hyperreactivity to acetylcholine as a simple autosomal recessive train in mice. FASEB 1988;2:2605-8.
15) Konno S, Adachi M, Matsuura T, Sunouchi K, Hoshino H, Okazawa A, et al. Bronchial reactivity to methacholine and serotonin in six inbred mouse strains. Arerugi 1993;42:42-7.
16) Gavett SH, Wills-Karp M. Elevated lung G protein levels and muscarinic receptor affinity in a mouse model of airway hyperreactivity. Am J Physiol 1993;265:L493-L500.
17) Korsgren M, Persson CG, Sundler F, Bjerke T, Hansson T, Chambers BJ, et al. Natural killer cells determine development of allergen-induced eosinophilic airway inflammation in mice. J Exp Med 1999;189:553-62.
18) Lambrecht BN, Salomon B, Klatzmann D, Pauwels RA. Dendritic cells are required for the development of chronic eosinophilic airway inflammation in response to inhaled antigen in sensitized mice. J Immunol 1998;160:4090-7.
19) Brusselle GG, Kips JC, Tavernier JH, van der Heyden JG, Cuvelier CA, Pauwels RA, et al. Attenuation of allergic airway inflammation in IL-4 deficient mice. Clin Exp Allergy 1994;24:73-80.
20) Garlisi CG, Falcone A, Kung TT, Stelts D, Pennline KJ, Beavis AJ, et al. T cells are necessary for Th2 cytokine production and eosinophil accumulation in airways of antigen-challenged allergic mice. Clin Immunol Immunopathol 1995;75:75-83.
21) Kaminuma O, Mori A, Ogawa K, Nakata A, Kikkawa H, Naito K, et al. Successful transfer of late phase eosinophil infiltration in the lung by infusion of helper T cell clones. Am J Respir Mol Cell Biol 1997;16:448-54.
22) Herz U, Lumpp U, Da Palma JC, Enssle K, Takatsu K, Schnoy N, et al. The relevance of murine animal models to study the development of allergic bronchial asthma. Immunol Cell Biol 1996;74:209-17.
23) Takeda K, Hamelmann E, Joetham A, Shultz LD, Larsen GL, Irvin CG, et al. Development of eosinophilic airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mast cell-deficient mice. J Exp Med 1997;186:449-54.
24) Coleman RA. Current animal models are not predictive for clinical asthma. Pulm Pharmacol Ther 1999;12:87-9.
25) Widdicombe JG. Afferent receptors in the airways and cough. Respir Physiol 1998;114:5-15.
26) Stelts D, Egan RW, Falcone A, Garlisi CG, Gleich GJ, Kreutner W, et al. Eosinophils retain their granule major

basic protein in a murine model of allergic pulmonary inflammation. Am J Respir Cell Mol Biol 1998;18:463-70.
27) Gordon J, Grafton G, Wood PM, Larche M, Armitage RJ. Modeling the human immune response : can mice be trusted? Commentary. Curr Opin Pharmacol 2001;1:431-5.
28) Persson CG, Erjefalt JS, Korsgren M, Sundler F. The mouse trap. Trends Pharmacol Sci 1997;18:465-7.
29) Canning BJ. Modeling asthma and COPD in animals : a pointless exercise? Curr Opin Pharmacol 2003;3:244-50.
30) Santing RE, Olymulder CG, Molen KVD, Meurs H, Zaagsma J. Phosphodiesterase inhibitors reduce bronchial hyperreactivity and airway inflammation in unrestrained guinea pigs. Eur J Pharmacol 1995;275:75-82.
31) Tohda Y, Muraki M, Kawai A, Iwanaga T, Kubo H, Fukuoka M, et al. Inhibitory effect of TMK-688 on late asthmatic responses as well as T-cell and eosinophilic infiltration in guinea pigs with asthmatic reactions. Int J Immunopharmacol 2000;22:123-30.
32) Sabater JR, Wanner A, Abraham WM. Montelukast prevents antigen-induced mucociliary dysfunction in sheep. Am J Respir Crit Care Med 2002;166:1457-60.
33) Singh J, Van Vlijmen H, Liao Y, Lee WC, Cornebise M, Harris M, et al. Identification of potent and novel alpha4beta1 antagonists using in silico screening. J Med Chem 2002;45:2988-93.
34) Bischof RJ, Snibson K, Shaw R, Meeusen EN. Induction of allergic inflammation in the lungs of sensitized sheep after local challenge with house dust mite. Clin Exp Allergy 2003;33:367-75.
35) Turner CR, Andresen CJ, Smith WB, Watson JW. Characterization of a primate model of asthma using anti-allergy/anti-asthma agents. Inflamm Res 1996;45:239-45.