

免疫反応における気管支喘息患者好塩基球 の生態観察に関する研究

第一編

抗免疫グロブリンの好塩基球運動能に及ぼす影響

岡山大学医学部平木内科教室 (主任：平木潔教授)

研究生 佐藤周一

【昭和50年8月20日受稿】

内容目次

第1章 緒言	第3節 低IgE喘息患者好塩基球遊走速度
第2章 実験対象並びに実験方法	第4節 ソバアレルギー症好塩基球遊走速度
第3章 実験成績	第4章 総括並びに考按
第1節 健康人好塩基球遊走速度	第5章 結語
第2節 高IgE喘息患者好塩基球遊走速度	

第1章 緒言

好塩基球は骨髓由来の白血球の成分として以前よりよく知られていた血液細胞であるにもかかわらず、最近までその機能本態についてほとんど解明されていなかった。すなわち1879年 Ehrlich¹⁾により初めて末梢血液中に観察されて以来組織肥胖細胞と形態的機能的に類似²⁾しているため、tissue mast cell に対して blood mast cell として把握され、主に形態学的な研究が進み、その機能については最近に至るまでほとんど不明であった。この主たる原因は好塩基球の末梢血液中への出現率が0.5%と他の白血球成分に比して極端に少ないためと思われる。

好塩基球は直径8~10 μ でメタクロマジーを呈する顆粒をもって充満している血液細胞であるが、その数的変動については幾つかの報告がある。又その数的変動の中で近年特にアレルギー疾患の代表である気管支喘息において、発作前に増加し発作中に減少するという詳細な報告が木村ら³⁾⁴⁾⁵⁾によりなされている。かえりみれば schlecht⁶⁾らにより動物実験で異種蛋白を注射すると好塩基球の増加がみられる事が報告されて以来、この方面の研究は遅々とした進歩であり、その間見るべき研究もなく近年に至

り気管支喘息における好塩基球の動態について木村らにより一連の詳細な報告³⁾¹¹⁾¹⁰⁾がなされるようになり、好塩基球が臨床アレルギーの現象に密接に関係している事が明白な事実として認識されるようになった。そしてこれまでの報告のほとんどが染色法を用いたいわゆる好塩基球の死んだ状態の観察であり、免疫反応における好塩基球の生態観察にいたってはほとんどその報告に接する事が出来ない。

ここにおいて著者は本編において生態観察下における抗免疫グロブリン添加による好塩基球の運動能の変化についてのべ、更に第2編においては好塩基球の抗免疫グロブリン添加による形態変化について報告する。

第2章 実験対象並びに実験方法

対象としてはアトピー型気管支喘息患者5例(血清IgE値1000u/ml以上)及び血清IgE値100u/ml以下の低IgE気管支喘息患者5例及びソバアレルギー症患者3例並びにアレルギー疾患を有しない健康人5例を選んだ。

第1節 好塩基球の分離

好塩基球の分離は Böyum¹¹⁾の方法に準じて行った。

シリコン加工した注射器を用い静脈血10mlを採血し、10% EDTA 0.5mlを入れたシリコン加工したビーカーに入れゆるやかに軽く混和するか、あるいはシリコン加工した注射器の内筒を十分ヘパリンで潤し、静脈血を10ml採取し、同様にシリコン加工したビーカーに入れ軽く混和した。上記の方法で得た EDTA 加あるいはヘパリン加静脈血に Hank's BSS (balanced salt solution) 30mlを静かに加え軽く混和する。次に 33.3% Conray 5 ml に 9% Ficoll 12mlを混合した比重1077の Conray-Ficoll混合液を作成し、その3mlをシリコン加工した13×105 mmの試験管に入れる。これに前記静脈血、Hank's BSS混合液8mlをきわめてゆるやかに重層する。この試験管を室温で40分間1500rpmで遠沈する。好塩基球はConray-Ficoll層の上部に灰白色雲状に出現する単核球層の中に出現する。この単核球層のみを分離し、当該血清を1/3量加えゆるやかに混和した後、37℃の恒温槽中に留置し実験に供した。

第2節 好塩基球遊走速度の測定

平木式培養盤1号を用いて、これに上記好塩基球浮遊液40 μ lを入れ、更に抗ヒトIgE goat血清(Hyland) 或いは抗ヒトIgG goat血清(Hyland)を10 μ l添加し、ソバアレルギー症患者にはソバ粉エキス1:1000を同様添加した。それをカバーガラスで被いすばやくパラフィン封入し、37℃に保温された保温箱に入れて、顕微鏡下に観察を行った。遊走速度の測定は観察開始時を0分とし、0~2分までの好塩基

球の中心点の移動距離をアッペの描画器を用いて記録し、しかる後1分間の平均値を出し、これを0分時の遊走速度とした。同様に5分から7分までの2分間の遊走速度を測定し、1分間の平均値を出した後、これを5分後の遊走速度とし、逐次5分毎に30分間の観察を行なった。好塩基球遊走速度の観察は同一患者について2回行ないその平均値で示した。また対照として無添加時の遊走速度の測定を行なった。なおこの場合 anti-IgE, anti-IgG 添加による好塩基球の脱顆粒、細胞の崩壊を極力防止する目的もあって、抗凝固剤として EDTA を使用したが、症例によっては観察途中で著明に膨化し、運動停止を来たす好塩基球がかなり多数認められた。このように観察途中で運動停止を来たした好塩基球は、遊走速度の測定から除外した。なおこれらの観察は明瞭に運動形態から好塩基球と思われるもののみについて実施した。

第3節 血清IgEの測定

血清IgEの測定は R I S T 法によった。

第3章 実験成績

第1節 健康人の好塩基球遊走速度

健康人においては anti-IgE 添加により、症例2及び症例4に好塩基球の軽度の運動亢進が認められたが他の3例では運動亢進は認められなかった。又 anti-IgG 添加及び無添加時にも図1、表1に示す如く運動亢進は認められなかった。

図1 好塩基球の遊走速度(健康人)

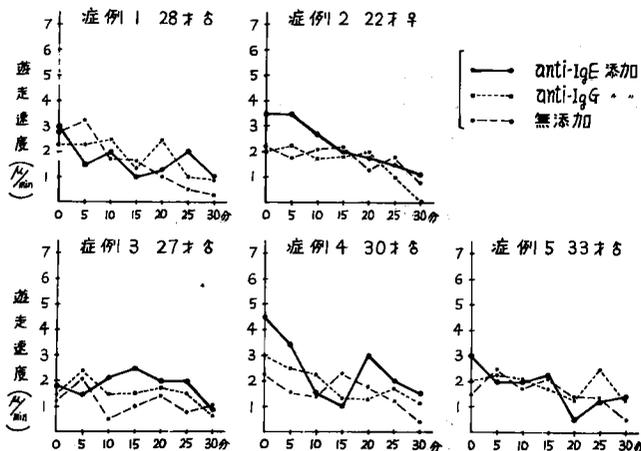


表1 好塩基球遊走速度

	μ/m	28才♂			22才♀			27才♂			30才♂			33才♂		
		添加せず	antiIgE添加	antiIgG添加												
健康人	0分	3	4	2.25	2.12	3.5	2	1.25	1.87	1.5	2.25	4.5	3	1.5	3	2
	5分	3.5	1.5	2.25	1.87	3.5	2.25	2.25	1.5	2.5	1.62	3.5	2.5	2.5	2	2.25
	10分	1.87	2	2.5	2.12	2.75	1.75	0.5	2.12	1.5	1.5	1.5	2.25	1.75	2	2
	15分	1.62	1	1.37	2.12	2	2	1	2.5	1.5	2.45	1	1.25	2.25	2.25	1.75
	20分	1	1.25	2.5	1.37	1.87	3	1.5	0.62	1.75	1.75	3	1.25	1.37	0.5	1.25
	25分	0.5	2	1	1.87	1.5	1	0.75	2.75	1.5	1.25	2	1.75	1.25	1.25	2.5
	30分	0.33	1	1	0.83	1.08	0	1	0.91	0.66	0.91	1.5	1.16	0.5	1.33	1.33
高IgE喘息患者	μ/m	25才♂			16才♀			27才♀			36才♀			11才♂		
		添加せず	antiIgE添加	antiIgG添加												
	0分	2	5.5	2.5	3.25	6.5	3.5	2.5	5.5	3	1.75	4	1.75	2	6	2.87
	5分	1.87	5	3	2.37	5.25	2.25	1.75	3.5	2	1.75	2.75	1.5	1.5	4.25	2.87
	10分	1.87	4	3	2	5	2.75	1.5	3	1.12	1.75	3	1.37	1.5	3	2.5
	15分	1.87	3	1.75	2.37	5	3	1.25	2.37	1.62	1.25	3.75	2	1.25	4.5	1.87
	20分	1.87	4	2.22	3	2	1.5	3	1.5	0.75	1.25	3.5	1.37	1.5	3.25	2
25分	1	2	2	0.75	2	0.7	2	2	1.75	1.5	2.75	1.75	1.25	2.5	1.75	
30分	1	2	0.91	0.91	1.33	1.16	0.66	2	1.37	1.16	1.33	0.75	0.83	2.16	1.16	
低IgE喘息患者	μ/m	50才♀			49才♂			43才♂			46才♂			63才♂		
		添加せず	antiIgE添加	antiIgG添加												
	0分	2	3	3	2.25	2.5	5.25	2.37	3.5	2.5	2	2.37	4	1.5	2.5	2.5
	5分	3	3.5	3	2.25	2.75	5	3	3.5	3.5	2	2	5	1.62	1.75	2.5
	10分	1.5	3.5	2.5	1.5	2	3	1.5	2.5	4	2	2.5	5	1.5	1.5	2.5
	15分	1.75	1.5	2	1.5	2	3.5	1.25	1.6	2	1.25	1.5	1.5	1.5	1.75	2.25
	20分	1.75	1.5	2.75	2.45	1	2.5	1.5	1	0.75	1.0	1.5	2.5	1.25	1	2
25分	2	1	0.91	1.25	1.33	2	1.5	1	0.91	1.5	1	2.33	1	1	1.3	
30分	1	1	0.91	1.5	0.83	1	0.9	1.5	1	0.7	1	1.87	1.5	1	1	
ソバアレルギー症	μ/m	30才♂		19才♀		20才♂										
		添加せず	ソバ添加	添加せず	ソバ添加	添加せず	ソバ添加	添加せず	ソバ添加	添加せず	ソバ添加	添加せず	ソバ添加	添加せず	ソバ添加	
	0分	2.5	6.6	2.25	3.8	3.2	7.5									
	5分	3.1	7.4	2	3.2	3.0	7.0									
	10分	2.8	6.0	2.8	2.5	2.5	6.5									
	15分	2.5	6.4	1.5	2.0	2.75	6.5									
	20分	2.4	5.2	1.5	1.75	2.4	3.75									
25分	1.7	2.0	1.25	1.5	2.2	2.5										
30分	1.7	2.2	1.25	1.5	2.2	2.5										

第2節 高IgE喘息患者の好塩基球遊走速度
 高IgE気管支喘息患者の末梢血に、anti-IgEを添加した際の好塩基球の遊走速度は、図2表1に示す如く各症例ともanti-IgE添加後4~6.5 μ/min と10~15分後頃までは活発な運動亢進を示した。5症例の平均をとってみれば図4、表2のようである。

1万 anti-IgG 添加及び無添加時の観察では、好塩基球はほとんど運動亢進を示さなかった。なお症例2及び症例4では、anti-IgE 添加後10~15分後に膨化し、運動停止を来たす好塩基球がそれぞれ5回のうち3回、4回のうち2回とかなり高頻度に観察された。anti-IgE 添加後観察途中で膨化してしまう

図2 好塩基球の遊走速度（気管支喘息患者—高IgE症例）

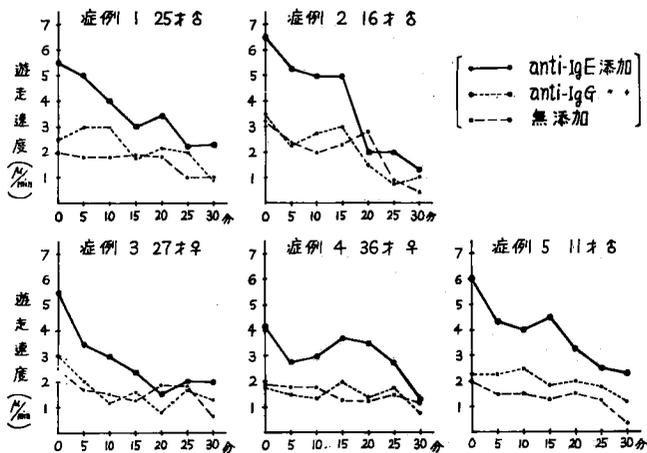
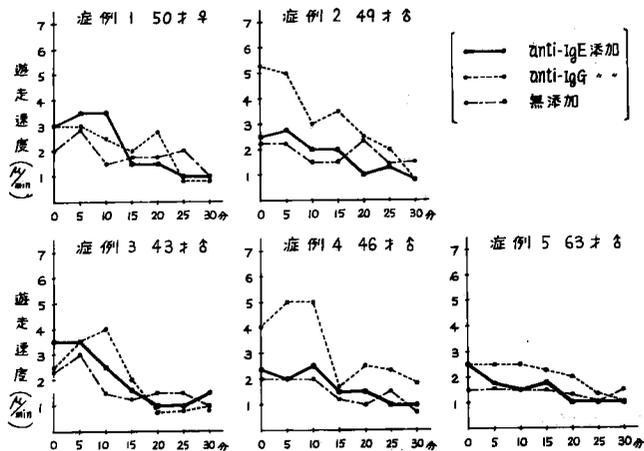


表2 好塩基球平均遊走速度

μ/m	健康人			高IgE気管支喘息患者			低IgE気管支喘息患者			ソバアレルギー症	
	添加せず	antiIgE添加	antiIgG添加	添加せず	antiIgE添加	antiIgG添加	添加せず	antiIgE添加	antiIgG添加	添加せず	ソバ添加
0分	2.1	3.15	2.16	2.27	5.38	2.62	2.02	2.79	3.45	2.65	5.96
5分	2.36	2.36	2.33	1.86	3.75	2.08	2.37	2.7	3.8	2.7	5.86
10分	1.66	2.15	2.08	1.75	3.44	2.13	1.6	2.4	3.4	2.7	5
15分	2.05	1.93	1.54	1.63	3.58	1.94	1.45	1.67	3.25	2.25	4.96
20分	1.38	1.28	2.04	1.86	2.94	1.58	1.59	1.2	2.11	2.1	3.56
25分	1.16	1.87	1.45	1.38	2.33	1.69	1.45	1.06	1.49	1.71	2.0
30分	0.68	0.97	0.69	0.94	1.88	0.96	1.12	1.06	1.15	1.71	2.06

図3 好塩基球の遊走速度（気管支喘息患者—低IgE症例）



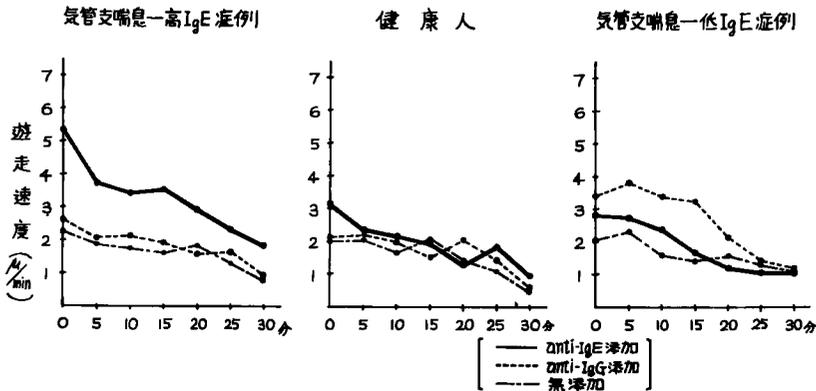
好塩基球は少数ながら他の症例においても認められたが、これらは遊走速度の測定からは除外した。

第4章 総括並びに考按

第3節 低 IgE 喘息患者の好塩基球遊走速度
図3, 表1に表す如く低 IgE 喘息患者において

好塩基球の運動能についてはほとんど報告がみられないが、わずかに平木ら¹²⁾の報告がある。それに

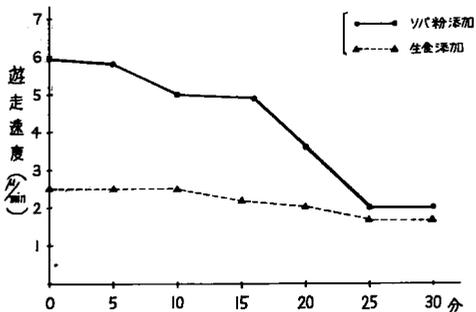
図4 気管支喘息における好塩基球の平均遊走速度



は症例2, 4, 5において anti-IgG 添加にて遊走速度亢進傾向がうかがわれた。又 anti-IgE 添加にては運動亢進は認められなかった。図4, 表2は5症例の平均好塩基球遊走速度であるが、全体を平均してみると、前項の高 IgE 喘息患者好塩基球における anti-IgE 添加の場合程ではないが、低 IgE 喘息患者においては anti-IgG により運動亢進を来す傾向がうかがわれた。

第4節 ソバアレルギー症患者の好塩基球遊走速度

図5 ソバアレルギー症における好塩基球の平均遊走速度



ソバアレルギー症においてはすべて図5に示す如く、ソバ抗原添加で0~20分まで運動亢進がみられ、その程度は可成り著明であった。そしてうち2例は2倍以上の遊走速度の亢進を示した。

よれば18.45μ/minとかなり速い遊走速度を好塩基球は示しているが、これは操作の相違とか、この場合好塩基性白血病という一種の病的状態の好塩基球であることが関係しているためかもしれない。又芳賀によれば遊走速度は好中球に比しはるかに遅いとのべている。しかし具体的な遊走速度については、好酸球については報告¹³⁾があるが好塩基球では不明である。実際私が生態観察をおこなったところでは、好塩基球は白血球の中では運動能の低い細胞に属する様に思われる。

一方1966年レアギンが石坂¹⁴⁾らにより新しい免疫グロブリンEであることが証明され、長い暗中摸索の時代をへてアレルギーの分野に1つの光明を与える事となった。そしてこの IgE の target cell が好塩基球であることが判明するに及び、好塩基球の機能と関連したその形態的変化が興味を呼ぶ様になった。今回著者は本実験においては anti-IgE を添加することにより、高 IgE のアトピー型気管支喘息患者の好塩基球遊走速度は亢進する事を証明したが、その亢進速度は無添加群の約2倍の速さである。これは好塩基球の細胞表面には IgE が結合している¹⁵⁾事が証明されているが、そこに anti-IgE が働いて抗原抗体反応をおこす結果、細胞自身の代謝課程を賦活し、ために細胞自身の遊走速度亢進をきたすのではないかと考えられる。このことはアレルギー反応局所への好塩基球の多数出現という木村らのSVTによる報告¹⁶⁾に見られる如く、恐らくは何等かの

chemotactic factorにより運動亢進をおこした好塩基球が反応局所に集まり、アレルゲンとの結合で更に運動能を獲得するものと思われる。

一方低IgE喘息患者は全部ステロイド依存性の難治性であったが、anti-IgG添加によって運動能亢進の傾向が認められた。これは気管支喘息に対して従来いわれていたIgEの関与のみならずIgGの関与も考えられ、喘息患者は個々においてanti-IgEとanti-IgGに対する反応性のある比率において有していると推察¹¹⁾されるが、私の結果はこれらを裏付けるものと考えられる。即ち低IgEを示す難治性喘息群においては、アトピー型高IgE喘息患者に比べてIgGの関与がより濃厚と考えられ、気管支喘息にIgGが関与しているという最近の説を裏付けるものであり、今後重症例の成因に対して示唆を与えるものと考えられる。

特異抗原に関連してソバアレルギー症患者におけるソバ粉エキスに対する遊走能の亢進は著明なものがあり、このような特異抗原としてのアレルゲンに対する好塩基球の反応の亢進は、即時型アレルギー反応の機序に対する重要な第1段階の反応であろう。

以上のべたごとく著者は気管支喘息患者においては、IgE優位の気管支喘息とIgG優位の気管支喘息の2つの大きな流れがあるのではないかと考えてお

り、IgG優位の気管支喘息はむしろ難治性喘息と関連しているように思われ、この解明は本症の治療との関係において極めて重要な意義を有するものと考えられる。

第5章 結語

抗免疫グロブリン (anti-IgE 及び anti-IgG) 及びアレルゲン添加による気管支喘息患者の好塩基球の運動能 (遊走速度) について追及し、次の結果を得た。

- 1) 血清 IgE 1000u/ml 以上のアトピー型気管支喘息患者では、好塩基球は anti-IgE 添加により運動能を獲得し、anti-IgG では対照と同様ほとんど変化は認められなかった。
- 2) 血清 IgE 100u/ml 以下の重症難治性気管支喘息患者では、anti-IgG の添加によって運動性を獲得し、anti-IgE 添加ではほとんど対照と変りなかった。
- 3) ソバアレルギー症においてはソバ抗原添加にて著明な運動亢進が認められた。

(稿を終るにあたり御指導御校閲を賜った恩師平木潔教授に深甚の謝意を表わすとともに、終始御懇篤なる御指導を賜った木村郁郎講師に深謝します。)

なお本論文の要旨は第23回日本アレルギー学会総会及び第15回日本臨床血液学会において発表した。

文 献

- 1) Ehrlich, P.: Earbenanalytische Untersuchungen zur Histologie und klinikdes Blutes, Hirschwand Berlin, 1891.
- 2) 小野三郎: 肥脾細胞の機能, 日血全書, 1形態: 605~608, 1963.
- 3) Kimura, I., Moritani, Y., Nishizaki, Y. & Tanizaki, Y.: Clinical significance of basophil leucocytes in bronchial asthma, Acta Medicinæ Okayama, 22: 203~208, 1968.
- 4) 木村郁郎, 守谷欣明, 西崎良知, 谷崎勝朗: 気管支喘息における好塩基球の臨床的意義, アレルギー, 17: 558~561, 1968.
- 5) 木村郁郎, 守谷欣明, 谷崎勝朗, 斉藤勝剛: レアギン型アレルギー (ホヤ喘息) における好塩基球の動態に関する研究, アレルギー, 20: 596~599, 1971.
- 6) Kimura, I., Moritani, Y. & Tanizaki, Y.: Basophils in bronchial asthma with reference to reagin-type allergy, Clinical Allergy, 3: 195~202, 1973.
- 7) Schlecht, H.: Über den Einfluss von seruminjektion auf die Eosinophilen und Mastzellen des menschlichen und tierisches Blutes. Münch. Med. Wschr., 57: 767~770, 1910.
- 8) 木村郁郎, 守谷欣明, 谷崎勝朗, 斉藤勝剛, 高橋清, 上田暢男, 佐藤周一: 好塩基球の血管外への出現について—アレルギー反応局所を中心に—日本血液学会誌, 36: 11~15, 1973.
- 9) 谷崎勝朗: 好塩基球に関する研究II, 気管支喘息における好塩基球の動態に関する研究, 岡山医学会誌, 85: 199~210, 1973.
- 10) 木村郁郎: 喘息と好塩基球, 最新医学, 28: 1521~1529, 1973.
- 11) Böyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood, Scandinavian

- journal of Clinical and laboratory Investigation, 21 suppl. 97:77-89, 1968.
- 12) 平木潔, 大藤真: 映画による血球の動態観察並に其の臨床応用—主として骨髓培養による—岡山医学会雑誌, 68:1-67, 1958.
 - 13) 井上正勝: 骨髓体外組織培養による好酸球に関する研究. 岡山医学会雑誌, 70:2506-2522, 1958.
 - 14) Ishizaka, K, and Iskizaka, T.: Identification of γ E antibodies as a carrier of reaginic activity. J. Immunol., 99:1187-1198, 1967.
 - 15) Sullivan, A. L., Grimley, P. M. and Metzger, H.: Electron microscopic localization of immunoglobulin E on the surface membrane of human basophils. J. Expel. Med. 134:1403-1416, 1971.
 - 16) Kimura, I., Tanizaki, Y., Takahashi, K., Saito, K., Ueda, N, & Sato, S.: Emergence of basophils at sites of local allergic reaction using a skin vesicle test, Clinical Allergy, 4:281-290, 1974.
 - 17) 木村郁郎: 気管支喘息とレアギン, 臨床免疫, 7:267-275, 1975.

Studies on supravital observation of basophils in bronchial asthma in immunological reaction

Part I.

Changes of migration velocity of basophils by addition of anti-immunoglobulin

by

Shuichi Sato

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

Director: Prof. Kiyoshi Hiraki

Changes of migration velocity of peripheral blood basophils by addition of anti-IgE or anti-IgG were observed in 13 asthma patients including 5 of high IgE asthma, 5 of low IgE asthma and 3 of buckwheat asthma cases. Basophils from high IgE asthma cases showed increased migration velocity by addition of anti-IgE. By addition of anti-IgG, however, the basophils showed no change in migration velocity.

Basophils from low IgE intractable asthmatic patients showed increased migration velocity by addition of anti-IgG but not of anti-IgE.

Buckwheat asthma cases showed the similar changes as in high IgE cases, when exposed to the antigen of buckwheat.