

肥満細胞ならびに好塩基球の形態と機能に関する研究

第 2 編

Cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) reaction

における好塩基球ならびに肥満細胞の研究

岡山大学医学部第2内科（主任：木村郁郎教授）

岸 本 卓 巳

（昭和57年3月18日受稿）

Key words : basophil, mast cell, degranulation,
homocytotropic antibody,

緒 言

好塩基球はトルイジンブルーにメタクロマジーを呈する顆粒で満された白血球の1つであり、1970年以来石坂らによって即時型アレルギー反応に関与するレアギン様抗体即ちIgE¹⁾のtarget cell であること²⁾が明らかにされた。一方、Jones, Mote³⁾は人の異物反応において、古典的な遅延型反応とは異なり、一過性でかつ硬結をともしない遅延型類似の反応があることを記載し、Raffelら⁴⁾は結核菌を含まない Freund incomplete adjuvant と少量の抗原にて、モルモットにも同様の反応が惹起されることを報告して、これを“Jones-Mote reaction”と呼んだ。またDvorak^{5)~7)}はモルモットに同様の感作方法で“Jones-Mote reaction”を作製し、その反応局所に多数の好塩基球が出現することを見出し、Cutaneous basophil hypersensitivity, (以下CBH)と名づけた。その後この反応はT-cell¹⁸⁾, B-cellのみならず、液性抗体によって、他にtransferされる^{9)~13)}ことなどが明らかにされているが、その成因の詳細は今だ不明確であり、またCBHないし遅延型反応に出現して来る好塩基球^{14)~19)}の役割自体も明確にされていない。そこで今回

モルモット皮膚にCBHを作製し、発赤皮膚局所に浸潤してくる各種細胞を、光顕レベルの観察で核の分葉、顆粒の性状等の差により、好塩基球と組織肥満細胞を鑑別し、50視野観察にてその推移ならびに形態学的特徴を検討し、CBH反応における好塩基球と肥満細胞の役割、各種細胞間の関連を基にCBH反応の成因について検討した。

対象ならびに実験方法

第1節 対象

300~400gの間のHartley albino guinea pig, 雌, 37匹を使用した。

第2節 実験方法

第1項 モルモットにおける Cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) 反応の作製

1 ml の Incomplete freund adjuvant (DIFCO) に卵白アルブミン(以下EA) (SIGMA) 10 μ g を混和して、22匹のモルモットの四肢足背部皮下に注射した。第6日目に腹部体毛を電気バリカンにて剃毛し、第7日目に0.1mlの生理食塩水に溶解した50 μ gEAを腹部皮内に投与した。投与20分、5時間、12時間、24時間、48時間、96時間後に皮膚発赤の大きさ、硬結を計測

した後皮膚採取を行なった。又、皮膚採取と同時に心内穿刺にて血液を採取し、木村ら²⁰⁾の好塩基球好酸球同時直接算定液にて白血球数とともに好塩基球、好酸球数を、Fuchs-Rosenthal計算板上で算定した。又、感作モルモット血清中のEAに対する抗体価はEA (0.25mg/ml) で標識したタンニン酸処理ヒツジ赤血球と希釈系列血清との凝集反応で評価したところ、血清の16倍希釈まで陽性であった。

第2項 CBH 皮膚局所への抗原再投与実験

前項の方法に準じて感作したモルモットの24時間後に発赤したCBH 皮膚反応局所に、0.1mlの生理食塩水に溶解した、50 μ g, 5 μ g, 0.5 μ g, 0.05 μ g, 0.005 μ gのEA及び対照として生理食塩水を皮内注射した。投与20分後まで皮膚反応を観察し、その部の皮膚を採取した。

第3項 反応皮膚組織の光学ならびに透過型電子顕微鏡標本の作製

反応皮膚組織は約1mm³に細切した後、0.5% sucrose加2.5% glutaraldehyde (TAAB) - 0.1 M cacodylate buffer で2時間前固定し、0.1 M cacodylate buffer にて2回水洗した。さらに1%オスミウム酸 (Polaron)にて後固定を2時間施し、エタノール系列 (25, 50, 70, 80, 90%で10分間, 95, 100%で20分間)で脱水し、プロピレンオキシドにて1時間置換した。その後エポキシ樹脂、プロピレンオキシド等量混合液にて一昼夜真空下で室温に放置した後、100%エポキシ樹脂に移し、30°C 1日, 60°C 2日間重合させ包埋した。光学顕微鏡標本の作製はL.K.B.製ミクロトームにてブロックを約1~1.5 μ mのsemi-thin sectionとし、0.1%トルイジンブルー (pH 6.5) 染色液で60°C, 1.5分間染色した。また同時にKOHにて脱エポン後ホウ酸ナトリウムで1:10に希釈したギムザ染色液により、室温で30分間染色した標本も作製し、比較検討した。そしてepidermis下のpapillary dermisをFig. 1の如く視野を選んで、1000倍 (光学顕微鏡) で合計50視野観察し、皮膚固有の組織肥満細胞、線維芽細胞とともに局所への浸潤細胞を観察算定した。一部の切片標本では浸潤好塩基球数とともにその含有顆粒数及び形態変化を観察した。CBH 皮膚反応局所の浸潤

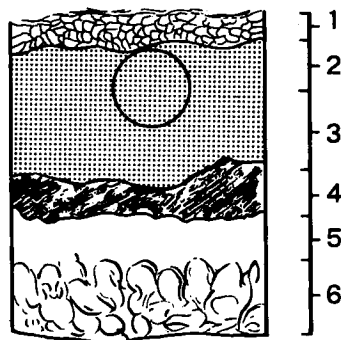


Fig. 1. A schema of guinea pig skin. The number of each skin layer indicates epidermis (1), papillary dermis or upper dermis (2), hypodermis (3), panniculus adiposus (fat) (4), loose connective tissue (5), panniculus carnosus (muscle) (6). Circle in the papillary or upperdermis shows a light microscopic field which was observed. ($\times 1000$)

Table 1. Peripheral blood leucocyte counts in C.B.H. reaction

Time after challenge	W. B. C. ($\times 10^9$ /cmm)	Basophil (/cmm)	Eosinophil (/cmm)
20min	39.9 $\pm$ 6.0	14.8 $\pm$ 1.5	91.8 $\pm$ 7.9
5hr	39.1 $\pm$ 7.6	6.3 $\pm$ 1.9	108.3 $\pm$ 12.2
12hr	37.4 $\pm$ 11.1	8.2 $\pm$ 1.5	122.3 $\pm$ 20.9
24hr	42.1 $\pm$ 15.0	16.0 $\pm$ 5.1	80.0 $\pm$ 16.8
48hr	47.7 $\pm$ 4.7	32.0 $\pm$ 3.9	119.3 $\pm$ 6.8
96hr	47.5 $\pm$ 11.6	11.0 $\pm$ 1.2	117.3 $\pm$ 16.5

Number represents Mean $\pm$ SEM

範囲に88.5%が出現した。Fig. 2.は May-Giemsa 染色による皮膚局所であるが、Fig. 2a)に示す如く、核が分葉し、好塩基球と考えられる細胞は、大型で濃いメタクロマジーを呈する顆粒を有しており、単核で小型の淡い赤紫色の顆粒を有する肥満細胞とは容易に鑑別可能であった。又、Fig. 2b.に示す如く、浸潤好塩基球は、papillary dermis に多数集積していた。又、Fig. 3.はトルイジンブルー単染色の24時間後のCBH 皮膚局所であるが、好塩基球はdark blueに、好酸球はlight greenに観察された。次に電子顕微鏡標本の作製は、ブロックを70nmのUltra-thin sectionとし、酢酸ウラニウム、クエン酸鉛の二重染色を行なった後、HS-8型、H-300型

Table 2. Skin reaction in C.B.H.

Time after skin test (EA)	Mean cross-diameter of redness (mm) *	Induration
20min	0	(-)
5hr	0	(-)
12hr	5.0±0.2	(-)
24hr	15.1±0.7	(-)
48hr	4.5±0.2	(-)
96hr	0	(-)

* Number represents Mean±SEM for five experiments

第1項 CBH 皮膚反応について

CBH 皮膚反応を惹起する目的で、感作モルモットの腹部皮内に抗原を投与すると、Table 2 に示す如く、注射5時間後までは全く発赤は認められず、12時間後より発赤がはっきりと測定し得た。さらに24時間後までその発赤は進展し、その直径は平均15.1 (SEM = ±0.7)mm となった。その後消退傾向を示し、96時間後には全く発赤は認められなくなった。なお硬結は全経過を通じて認められなかった。

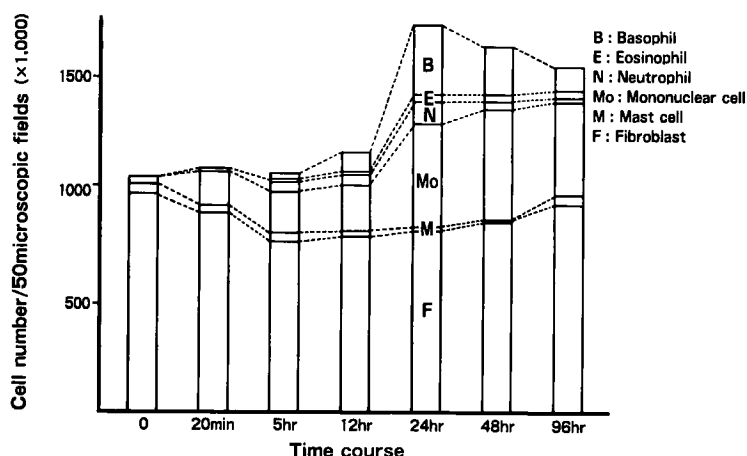


Fig. 4. Total cell number in the time course of CBH reaction. Tissue cells, such as mast cell and fibroblast, do not increase in number during positive CBH skin reaction. On the contrary, the number of infiltrating cell shows a peak at 24hr. Basophils infiltrate markedly into CBH skin after 24 hr.

透過電子顕微鏡にて観察した。

実験成績

第1節 CBH 惹起モルモットにおける末梢血好塩基球の動態

感作モルモットに抗原を投与した際の末梢血白血球の推移については、Table 1 に示す如く、その総細胞数に有意な変動はなかった。しかし、好塩基球については24時間及び48時間で有意な増加($p < 0.01$)を示したが、白血球総数に対する好塩基球の占有率はいずれも1%以下と低率であった。他方好酸球については一定した変動は認め難かった。

第2節 CBH 反応局所の経時的観察と投与抗原濃度差による検討

第2項 CBH 皮膚反応局所における細胞成分の観察

CBH 皮膚反応局所の皮膚固有組織を形成している hair follicle, epithelial cell, vascular pericyte を除外した、全細胞成分の時間的推移は Fig. 4 の如くである。総細胞数は発赤の大きさに一致して、24時間後に1663と peak に達し、以後漸減した。皮膚固有の線維芽細胞には有意な変動が認められていない点から全細胞の変動は浸潤細胞に依存していると考えられた。そこで線維芽細胞と組織肥満細胞を除いた総浸潤細胞の変動を検討すると、抗原投与後より増加し始めて、24時間後に最大の 846 となり、以後減少傾向を示した。一方皮膚反応が陰性化した96時間後には 438 と浸潤細胞はなお組織に残存し

Table 3. Infiltrating cell population in the time course of C.B.H. reaction after antigen challenge

Time After Challenge	Infiltrating cells * (% of infiltrating cells)				Total
	Basophil	Eosinophil	Neutrophil	Mononuclear Cell	
20min	0 (0)	0 (0)	11 (4.93)	212 (95.07)	223
5hr	24 (0.21)	9 (2.70)	38 (11.41)	262 (78.68)	333
12hr	88 (17.75)	15 (3.03)	45 (19.09)	347 (70.10)	495
24hr	310 (36.04)	32 (3.78)	98 (11.08)	406 (47.99)	846
48hr	213 (36.09)	32 (5.48)	31 (5.28)	311 (52.98)	587
96hr	103 (23.52)	34 (7.76)	19 (14.34)	282 (64.35)	438

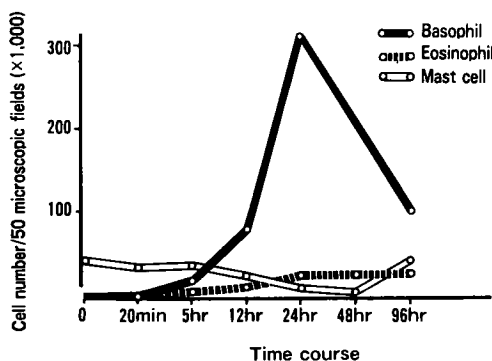
* number of infiltrating cells was counted in 50 microscopic fields ($\times 1,000$)

Fig. 5. Relation among basophil, eosinophil and mast cell in the time course of CBH reaction. The number of basophil shows a peak at 24 hr after challenge of antigen. On the contrary, mast cells are decreased in number at 48 hr after challenge of antigen.

ていることが窺われた。それらの浸潤細胞中増加しているのは単核球のみならず、好中球、好塩基球も同様であり、いずれも24時間後が最大であった(Table 3)。またアレルギー性炎症反応に最も密接に関与していると考えられる組織肥満細胞、好塩基球及び好酸球についてその変動を観察すると、Fig. 5 の如く、まず組織肥満細胞は抗原投与後漸減し、20分後に37であったものが、48時間後には8にまで減少し、しかもFig. 6に示す如く、細胞内顆粒が減少しているものが多かった。96時間後には再び43と投与前と同じレベルにまで回復し、その顆粒も Fig. 7に示す如く正常の肥満細胞と同程度のdensity のものが大部分であった。一方、好塩基球は Fig. 5に示す如く抗原投与後5時間で出現しはじめて、24時間で著明に増加し、96時間後にも浸潤細胞

Table 4. Morphological changes of infiltrating basophils in C.B.H. reaction site

	Concentration of antigen (Egg albumin, μ g)		
	50	100	500
number of basophils *	105	91	74
number of granules per basophil **	10.3 $\pm$ 0.4	9.0 $\pm$ 0.4	8.4 $\pm$ 0.3
% of basophils** with vacuoles	14.4 $\pm$ 3.4	18.7 $\pm$ 4.1	24.3 $\pm$ 2.8

* Cell count was done in 20 different fields by light microscopy ($\times 1000$)** Number represents Mean $\pm$ SEM

Table 5. Morphological changes of infiltrating basophils after rechallenger of antigen

	0	0.005	0.05	0.5	5	50
number of basophils*	257	163	184	163	148	123
number of granules per basophil**	13.2±0.3	11.1±0.3	10.1±0.3	10.4±0.3	9.5±0.3	8.7±0.3
% of basophils with vacuoles**	12.2±2.0	16.6±2.9	15.7±2.7	22.7±4.2	21.1±3.4	32.5±4.2

* Cell count was done in 40 different fields by light microscopy (×1000)

** Number represents Mean±SEM

の23.5%となお高率を占めていた。他方、好塩基球については24時間後までは増加傾向にあるが、その後96時間までplateauであった。

第3項 投与抗原濃度差によるCBH皮膚局所における好塩基球の形態学的観察

CBH皮膚反応惹起に用いられる抗原の各濃度での浸潤好塩基球の形態的变化を、その顆粒の性状を中心に比較検討した。その結果は、Table 4に示す如く、20視野での浸潤好塩基球数、含有顆粒数の減少あるいは脱顆粒像と考えられる空胞を形成した好塩基球数は50 μ gと500 μ g投与群の間では、推計学的に有意($p<0.01$)であり、抗原濃度に依存する傾向が示された。

第3節 CBH皮膚反応局所への抗原再投与実験

第1項 抗原再投与による皮膚反応について
24時間後に淡く発赤したCBH皮膚反応局所に、再度0.5 μ gのEAを再投与した際の皮膚局所は5分後にはその赤味を増し、10分後には朱色となり、20分後には皮下出血を思わせる深紅色の皮膚反応を呈した。

第2項 投与抗原濃度差による皮膚反応局所好塩基球の形態学的検討

CBH皮膚反応局所に各濃度の抗原を再投与した際の好塩基球の形態変化は、Table 5の如く、浸潤好塩基球数の減少、顆粒数の減少ならびに脱顆粒好塩基球の出現頻度は前項の成績と同様抗原濃度が上昇するにつれて高率になる傾向であった。又、Fig. 8は抗原濃度が0.005 μ gの浸潤好塩基球であるが、好塩基球顆粒の減少、空胞の形成あるいは明らかに顆粒を放出している像が観察された。

第3項 皮膚反応局所好塩基球の超微形態

学的検討

CBH皮膚反応局所に抗原を再投与した際の浸潤好塩基球を超微形態学的に検討した。まずCBH皮膚反応局所に浸潤した好塩基球(Fig. 9)では顆粒のdensityが均一でそれぞれ顆粒膜を有していたが、他方0.5 μ g/mlのEA再投与後20分での好塩基球(Fig. 10)は、明らかな開口部あるいは顆粒の逸脱像は認められないものの、顆粒膜は相互に融合消失しており、また各々の顆粒密度には不均一性が強く、顆粒の細胞内融解に引き続く顆粒の放出像と考えられる所見が観察された。また、Fig. 11では明らかな顆粒逸脱像も観察された。

以上抗原再投与により超微形態学的に好塩基球の脱顆粒現象が示され、前述のCBH皮膚反応局所での好塩基球の形態学的変化に比較して、その局所での強い反応が窺われた。

総括ならびに考案

Cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) 反応皮膚局所に多数出現する好塩基球の役割を、生理学的、免疫学的に類似した組織肥満細胞や反応局所に遊出した各種細胞との相互関係を含めて形態学的に検討したところ、好塩基球は反応局所への出現のphaseが肥満細胞の反応後であり、かつ肥満細胞と同様の形態学的変化、即ち、浸潤好塩基球に空胞の形成がかなりに認められること、又、抗原量に依存して脱顆粒現象が明瞭になる所見から、両細胞はCBH反応下でchemical mediatorを放出し、免疫反応の場に於いて重要な役割を果していることが示唆された。今回の観察において、CBH反応皮膚局所への細胞の遊出態度としては皮膚発赤反応に伴

なって総浸潤細胞数は24時間後まで増加傾向を示し、それ以降減少傾向を認めた。浸潤好塩基球については24時間から48時間後に総浸潤細胞における占有率は最高となり、皮内反応が陰性となる96時間後に於いてもなお好塩基球数はかなりの高率を占めており、この反応の全経過を通じて、好塩基球が主座を占めていることが容易に推察された。CBH反応局所への好塩基球の集積に関しては、まずDvorak¹⁰⁾によりT-cellの関与が示された。すなわちCBH反応を呈するモルモットのT-cellを移入することより、CBHが作製でき、Anti-T-cell serumにて前処置しておく、CBH反応が減弱し²¹⁾、またリンパ球をPHAまたは特異抗原にて培養したsupernatantに好塩基球のchemotaxisが証明された^{22)~24)}ことなどの事実から、T-cellの関与が明らかにされた。またAskenaseら^{25), 26)}によりAntigen specific B-cellによるCBHの作製やhapten specific CBHが成立すること、またB-cellによりmodifyされた古典的遅延型反応のproductとしてCBHを作製できる²⁷⁾ことより、B-cellによるCBH反応への関与も示された。さらにCBHのimmune serumによる移入が可能で、Ig-G₁にその因子が含まれること²⁸⁾も実験的に示され、cellular immunityのみならず、humoral immunityが関与していることが明らかにされたが、それらの相互関係ならびに成因については、まだ不明な点が多い。それらを解明するために、本実験では感作動物における末梢血好塩基球及びCBH反応局所に浸出した好塩基球の反応性も検討した。末梢血における好塩基球数は24時間、48時間には実数として有意($p < 0.01$)な増加を示すが占有率では1%以下であり、特に増加しておらず、これはモルモットの末梢血好塩基球が非常に低率であるため絶対数の増加としては著明でないものと考えられた。しかし、末梢血好塩基球の反応性については、木村ら²⁹⁾の反応好塩基球の直接算定を行なって、好塩基球の変形率を検討したところ(成績未発表)、抗原添加群での変化率が高率であったことより、CBH感作が成立した時期には、既に好塩基球も感作されており、chemotaxisによって反応局所に遊出しやすい状態にあることが示唆された。

次にCBH反応局所に遊出した好塩基球の役割については、そのchemical mediatorが何らかの形で関与しているものと考えられる。この点に関して、Richerson⁵⁾は卵白アルブミン、人血清アルブミンを用いて作製したCBHへの抗原再投与においては脱顆粒を認めていないが、Askenase³⁰⁾のKeyhole limpet hemocyaninを用いた同様の再投与実験では、好塩基球が脱顆粒を起こしてその数が半減し、またhistamine releaseによると考えられる血管透過性の亢進を観察し、この反応をCutaneous basophil anaphylaxisと呼んでおり、相反する成績が報告されている。今回著者は投与抗原濃度差あるいはさらに浸潤好塩基球への抗原再投与により、好塩基球の出現頻度をその形態学的変化を検討した結果、投与抗原を10倍にするとかえって出現好塩基球数が減少するだけでなく、その含有顆粒が減少しており、residual local antigenがその反応部位に集積した好塩基球と相互作用したための脱顆粒によるものと考えられた。又24時間後に各種抗原濃度を再投与した場合、 $0.005 \mu\text{g}$ という低濃度でも同様の好塩基球数の高度減少とともに、著明に脱顆粒した細胞(Fig. 11)が高頻度にみられた。この成績より、CBH反応局所に集積した好塩基球表面にはhomocytotropic antibodyが存在し、その反応は抗原濃度依存性の傾向を示すことが示唆された。

一方、観察視野である表皮下の肥満細胞については、抗原投与後20分ではほとんどその数に変動はなかったが、投与後48時間までは漸減傾向にあり、しかも好塩基球の場合と同様、その含有顆粒数の減少を認めたが、96時間後には再び細胞数とともに含有顆粒数も投与前と同程度に回復した。この現象は反応局所での肥満細胞と好塩基球の出現比率、その際の形態変化、特にchemical mediator放出の示標である顆粒の消失あるいは細胞外放出像から両細胞の密接な関連が考えられた。この点に関して、allograft rejectionでは、まず好塩基球が増加し、その後好塩基球が減少するにつれて肥満細胞が増加してくることが報告³¹⁾されている。この際的好塩基球集積因子はリンフォカインであり、肥満細胞が再度増加する因子は不明であるが、そ

の一因として肥満細胞の mitosis が関与³²⁾している可能性をあげている。しかし本来局在していた肥満細胞との関連について検討がなされておらず、今回の成績の如く、肥満細胞の脱顆粒が好塩基球の局所集積に先行することからすれば、肥満細胞がこの反応の第1段階であることも考えられる。また Kay³³⁾は pollen で感作された肺組織とその antigen extract を反応させた際の上清中に好塩基球の chemotatic factor があるとしていること、又 Kimura³⁴⁾はCBH反応において、時々好塩基球が肥満細胞に近接しており、これらの細胞内の cytoplasmic continuityが部分的にあると報告しており、また Dvorak³⁵⁾は人の PPD, Dinitrochlorobenzene test における遅延型反応において、肥満細胞の hypogranulation が特に papillary~reticular dermis にみられること、また教室の高橋³⁶⁾は人の PPD や真菌類による遅延型皮膚反応局所に好塩基球が出現することを skin vesicle test を用いて観察している。

以上を総括すると、CBH 反応局所における好塩基球の集積に肥満細胞がリンパ球とともに強く関与していることが示唆され、好塩基球と肥満細胞の関連については形態学的な面だけでなく、生化学的な検索が今後に残された問題であると考え、現在検討中である。

結 語

CBH 反応における好塩基球の生理学的機能及びCBH反応の機序を解明する目的で、Dvorakらの方法に準じて、モルモットにCBH 反応を作

製し、皮膚反応所見とともに好塩基球を含む浸潤細胞を組織肥満細胞との関連に於いて形態学的に観察し、以下の結果を得た。

1) CBH 皮膚反応時の末梢白血球数には著明な変化はなかったが、好塩基球数は24時間から48時間で有意に増加した($p<0.01$)。

2) CBH 皮膚局所の浸潤好塩基球は抗原投与後24時間から48時間で peak を示したが、組織肥満細胞は抗原投与後漸減し、48時間で最低となり、形態学的にも hypogranulation を呈した。さらに96時間後には再び肥満細胞数と含有顆粒数は増加し、元のレベルに回復した。この結果より、CBH 反応における好塩基球の動員に肥満細胞の関与が示唆された。

3) 抗原を再投与した場合には局所に即時型の反応が見られ、CBH反応に動員された好塩基球は抗原と反応し脱顆粒を起こすことが光顕のみならず、顆粒の halo 形成、あるいは細胞外放出像等の脱顆粒現象として透過型電顕による超微形態学的観察で明らかにされた。

以上CBH 反応の好塩基球は抗原により感作されており、膜表面に homocytotropic antibody が存在すること、又好塩基球の動員の一因子として組織肥満細胞の関与が示唆された。

擧筆にあたり、終始御懇篤なる教示、御指導を戴いた恩師木村郁郎教授、ならびに高橋 清助手、宗田 良研究生に深甚なる謝意を表する。

本論文の要旨は、昭和56年度第31回アレルギー学会総会に於いて発表した。

文 献

1. Ishizaka, K. and Ishizaka, T.: Identification of IgE antibodies as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.* 99, 1187—1198, 1967.
2. Ishizaka, T., Tomioka, H. and Ishizaka, K.: Degranulation of human basophilic leucocytes by anti-IgE antibody. *J. Immunol.* 106, 705—710, 1971.
3. Jones, T.D., Mote, T.R.: The phase of foreign sensitization in human beings. *N. Engl. J. Med.* 210, 120—123, 1934.
4. Raffel, S., Newel, J.M.: The "delayed hypersensitivity" induced by antigen-antibody complexes. *J. Exp. Med.* 108, 233, 823—841, 1958.
5. Richerson, H.B., Dvorak, H.F. and Leskowitz, S.: Cutaneous basophil hypersensitivity.: A new inter-

- pretation of the Jones-Mote reaction. *J. Immunol.* 103, 1431—1434, 1967.
6. Richerson, H.B., Dvorak, H.F. and Leskowitz, S.: Cutaneous basophil hypersensitivity. I. A new look at the Jones-Mote reaction, general characteristics. *J. Exp. Med.* 132, 558—582, 1970.
 7. Dvorak, H.F., Dvorak, A.M., Simpson, B.A., Richerson, H.B., Leskowitz, S. and Karnovsky, M.J.: Cutaneous basophil hypersensitivity. II. A light and electron microscopic description. *J. Exp. Med.* 132, 558—582, 1970.
 8. Stadecker, M.J. and Leskowitz, S.: The cutaneous basophil response to mitogen. *J. Immunol.* 113, 496—500, 1974.
 9. Graziano, F.M. and Askenase, P.W.: Involvement of Fc receptor in antigen-mediated cutaneous basophil hypersensitivity reactions. *J. Immunol.* 123, 1645—1652, 1979.
 10. Dvorak, H.F., Colvin, R.B. and Churchill, W.H.: Specificity of basophils and lymphocytes in cutaneous basophil hypersensitivity. *J. Immunol.* 114, 507—511, 1975.
 11. Askenase, P.W., Haynes, J.D. and B.J. Hayden.: Antibody-mediated basophil accumulations in cutaneous hypersensitivity reactions of guinea pig. *J. Immunol.* 117, 216—224, 1976.
 12. Askenase, P.W., Haynes, J.D., Tauben, D. and DeBernado, R.: Specific basophil hypersensitivity induced by skin testing and using immune serum. *Nature* 256, 52—54, 1975.
 13. Stadecker, M.J., Lekic, M., Dvorak, A.M., and Leskowitz, S.: The cutaneous basophil response to phytohemagglutinin in chickens. *J. Immunol.* 118, 1564—1568, 1977.
 14. Askenase, P.W.: Role of basophils, mast cells and vasoamines in hypersensitivity reactions with a delayed time course. *Prog. Allergy* 23, 199—320 (Karger, Basel) 1979.
 15. Askenase, P.W., Granziano, F. and M. Worms.: Immunological of cutaneous basophil reactions. *Monogr. Allergy* 14, 223—235 (Karger, Basel) 1979.
 16. Dvorak, H.F.: Role of the basophilic leucocytes in allograft rejection. *J. Immunol.* 106, 279—281, 1971.
 17. Dvorak, H.F., Simpson, B.A., Bast, R.C. and Leskowitz, S.: Cutaneous basophil hypersensitivity. III. Participation of the basophil in hypersensitivity to antigen-antibody complexes, delayed hypersensitivity, and contact allergy, passive transfer. *Immunology.* 107, 138—148, 1978.
 18. Dvorak, H.F. and Hirsch, M.S.: Role of basophilic leucocytes in cellular immunity to vaccinia virus infection. *J. Immunol.* 107, 1576—1582, 1971.
 19. Dvorak, H.F. and Mihm, M.C.: Basophilic leucocytes in allergic contact dermatitis. *J. Exp. Med.* 135, 235—254, 1972.
 20. 木村郁郎, 谷崎勝朗: 好塩基球及び好酸球の適切な同時直接算定法の考案とその臨床的評価, 医学のあゆみ, 69, 25—28, 1969.
 21. Stadecker, M.J. and Leskowitz, S.: The inhibition of cutaneous basophil hypersensitivity reactions by a heterogenous anti-guinea pig T-cell serum. *J. Immunol.* 116, 1646—1651, 1976.
 22. Ward, P.A., Dvorak, H.F., Cohen, S., Yoshida, T., Data, R. and Selvagio, S.S.: Chemotaxis of basophils by lymphocyte-dependent and lymphocyte-independent mechanisms. *J. Immunol.* 114, 1523—1531, 1975.
 23. Boetcher, P.A. and Leonard, E.J.: Basophil chemotaxis, augmentation by a factor from stimulated lymphocyte cultures. *Immunol. Commun.* 2, 421—429, 1973.
 24. Lett-Brown, M.A., Boetcher, D.A. and Leonard, E.J.: Chemotactic response of normal human basophils to C5a and to lymphocyte-derived chemotactic factor. *J. Immunol.* 117, 246—252, 1976.
 25. Haynes, J.D. and Askenase, P.W.: Cutaneous basophil responses in neonatal guinea pigs: Active imm-

- unization hapten specific transfer with small amount of serum and preferential elicitation with phytohemmagglutinin skin testing. *J. Immunol.* 118, 1063—1069, 1977.
26. Askenase, P.W.: Cutaneous basophil hypersensitivity in contact sensitized guinea pigs. I. Transfer with immune serum. *J. Exp. Med.* 138, 1144—1155, 1973.
27. Katz, S.I. and Turk, J.L.: B-cell suppression of delayed hypersensitivity reaction. *Nature* 251, 550—551, 1974.
28. Haynes, J.D., Rosenstein, R.W. and Askenase, P.W.: A newly described activity of guinea pig IgG₁ antibodies.: Transfer of cutaneous basophil reactions. *J. Immunol.* 120, 886—894, 1978.
29. 木村郁郎, 谷崎勝朗, 高橋 清, 細川正雄, 小野波津子, 石橋 健, 中村之信, 佐々木良英, 小林 誠: アレルゲン検出における反応好塩基球の意義: 好塩基球直接算定法を応用して, アレルギー, 27, 725 — 729, 1978
30. Askenase, P.W., Debernardo, R., Tauben, D. and Kashgarian, M.: Cutaneous basophil anaphylaxis; Immediate vasopermeability increases and anaphylactic degranulation of basophils at delayed hypersensitivity reactions challenge with additional antigen. *Immunology.* 35, 741—755, 1978.
31. Colvin, R. and Dvorak, H.F.: Basophils and mast cells in renal allograft rejection. *Lancet* 1, 212 — 214, 1974.
32. Dvorak, H.F.: Cutaneous basophil hypersensitivity. *Allergy Clin. Immunol.* 58, part 2, 229—240, 1976.
33. Kay, A.B. and Austen, K.F.: Chemotaxis of human basophil leucocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 11, 557—563, 1970.
34. Kimura, M. and Takaya, K.: Ultrastructure of basophilic leucocytes and mast cells in normal and cutaneous basophil hypersensitivity-reacted guinea pig dermis. *Int. Arch Allergy Appl. Immunol.* 60, 383—389, 1979.
35. Dvorak, H.F., Mihm, M.C., Dvorak, A.M., Johnson, R.A., Manseau, E.J., Morgan, E. and Colvin, R.B.: Morphology of delayed type hypersensitivity reactions in man. I. Quantitative description of the inflammatory response. *Lab. Invest.* 31, 111—130, 1974.
36. 高橋 清: アレルギー反応局所の好塩基球の動態に関する研究: 第3編, 中間型および遅延型アレルギー反応皮膚局所への好塩基球の出現について, 岡山医学会雑誌, 89, 1475—1485, 1977.

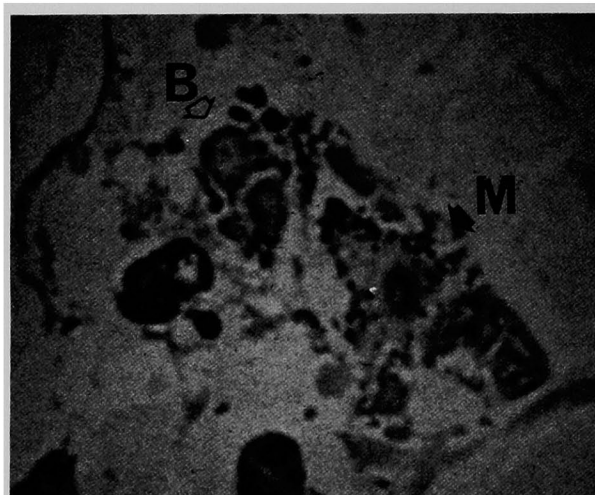


Fig. 2a.

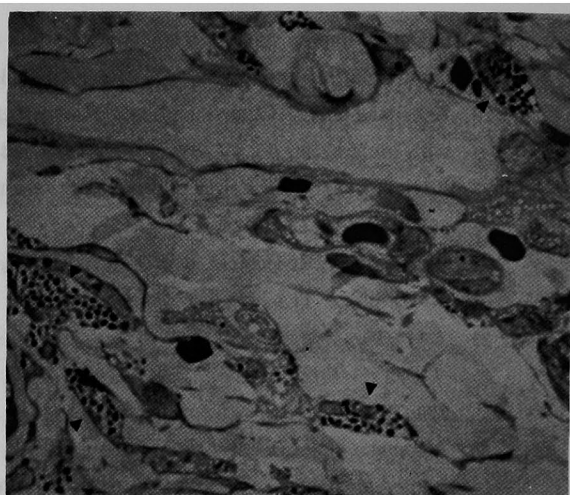


Fig. 2b

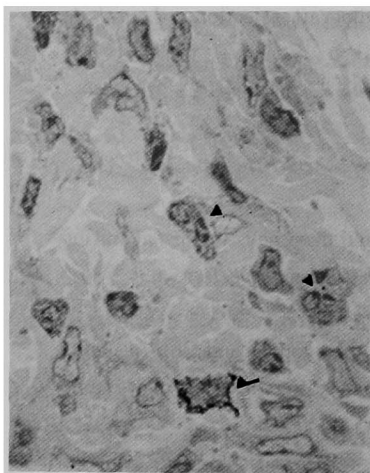


Fig. 3a

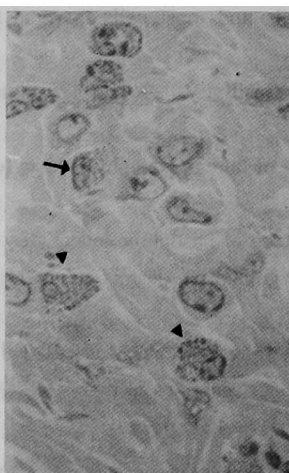


Fig. 3b

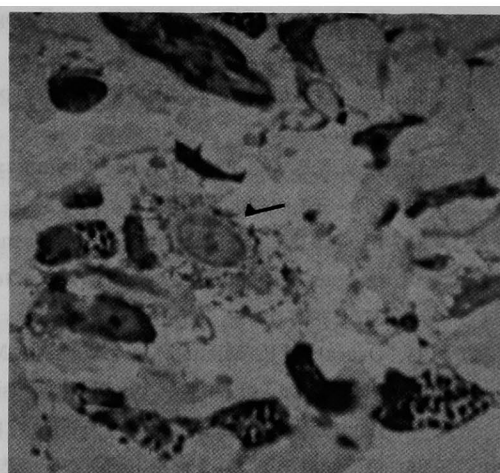


Fig. 6

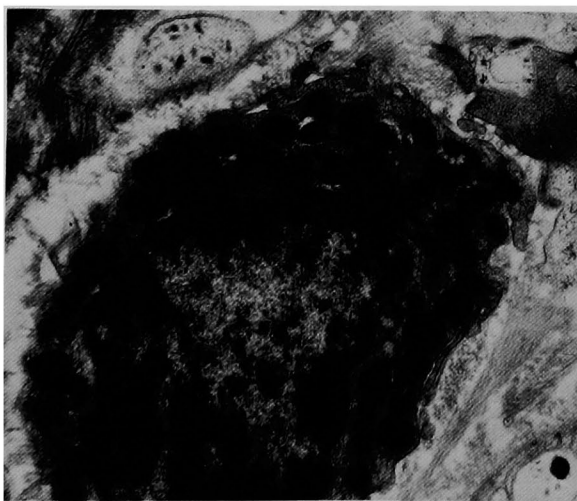


Fig. 7

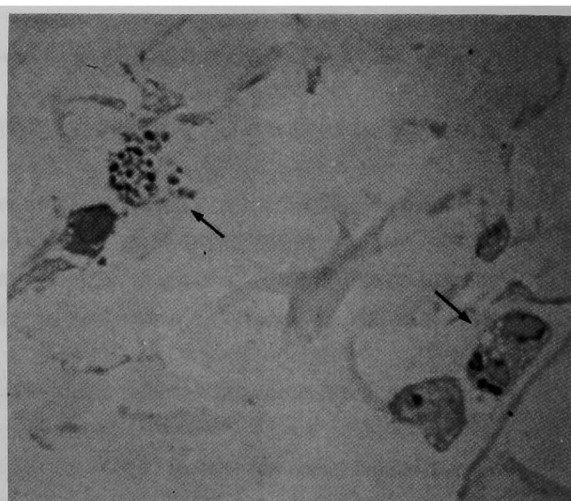


Fig. 8



Fig. 9



Fig. 10

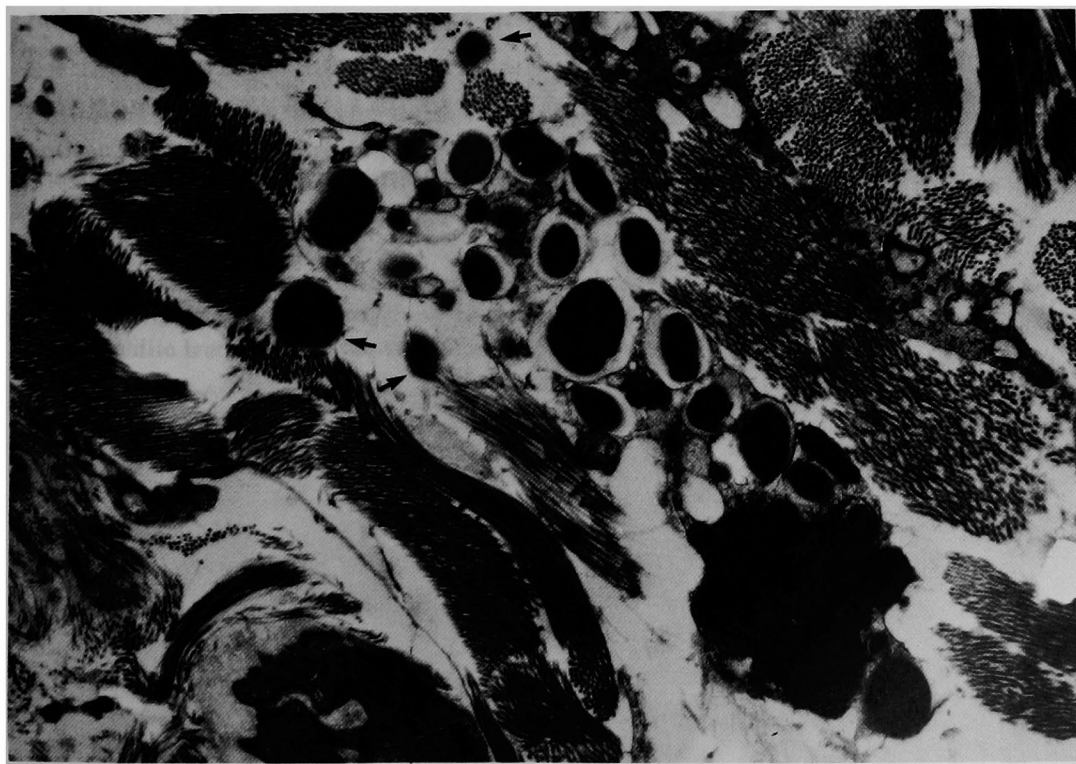


Fig. 11

附 図 説 明

- Fig. 2a. CBH 反応局所的好塩基球と肥満細胞：濃紫色に染色される大きな顆粒をもつ多核的好塩基球(B)とメタクロマジーを呈する小さな顆粒を持つ単核の肥満細胞(M)は容易に鑑別できる。(エポキシ樹脂包埋標本の semi-thin section の May-Giemsa 染色, $\times 4000$)
- Fig. 2b. 抗原投与後24時間の表皮下の papillary dermis：濃紫色に染色される好塩基球が多数観察される。(▲) ($\times 2600$)
- Fig. 3a. 抗原投与後24時間の CBH 反応発赤局所：メタクロマジーを呈する顆粒を持つ肥満細胞(▲)と、紫色に染色される顆粒を持つ好塩基球(▲)が多数観察される (Semi-thin section の トルイジンブルー染色, $\times 1800$)
- Fig. 3b. Fig. 3a と同一の場所。好塩基球(▲)とともにライトグリーンに染色される顆粒を持つ好酸球が観察される(←) ($\times 1800$)
- Fig. 6. 抗原投与後48時間の CBH 反応皮膚局所：細胞内顆粒が減少し、一部その顆粒の細胞外逸脱を認める肥満細胞(←), と大型の濃い顆粒を持ち、正常構造を有する好塩基球が観察される。(Semi-thin section の May-Giemsa 染色, $\times 3400$)
- Fig. 7. 抗原投与後96時間の CBH 反応皮膚局所の肥満細胞：単核で多数の microvilli を有し顆粒は uni-density であり、未反応の肥満細胞と思われる。($\times 10000$)
- Fig. 8. 抗原 ($0.005\mu\text{g}$) 再投与後20分での CBH 反応皮膚局所的好塩基球：好塩基球顆粒の減少、空胞の形成あるいは明らかに細胞外に顆粒を放出している像が観察される。(←) (Semi-thin section の May-Giemsa 染色, $\times 2700$)
- Fig. 9. CBH 反応皮膚局所的好塩基球：抗原投与後24時間に遊出して来る好塩基球の顆粒は density がほぼ均一で明瞭な脱顆粒の所見を呈するものは少なかった。($\times 11000$)
- Fig. 10. CBH 反応皮膚局所的好塩基球：抗原 ($0.5\mu\text{g}$) 再投与後 20分での浸潤好塩基球は顆粒膜が相互に融合消失し、各々の顆粒の細胞内融解の像とその部に一致した開口部を認め顆粒放出の所見が観察された。($\times 12000$)
- Fig. 11. CBH 反応皮膚局所的好塩基球： $0.5\mu\text{g}$ 再投与後20分での浸潤好塩基球であるが、Fig. 10 と同様明らかな顆粒放出像(←)を認めた。($\times 19000$)

Studies on morphology and function of mast cells and basophils
Part II. A kinetic and morphological study of mast cells and
basophils in cutaneous basophils hypersensitivity (CBH) reaction

Takumi KISHIMOTO

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School,
Okayama

(Director: Prof. I. Kimura)

The cutaneous basophil hypersensitivity (CBH) reaction in guinea pig is similar but with some differences to delayed hypersensitivity. Distinctive features of the CBH reaction are that numerous basophils accumulate at the reaction site. Basophilic leucocytes, therefore, may play an important role as a cellular component in CBH. Morphological features of the CBH reaction over time were observed by light and electron microscopy.

The following results were obtained:

1) The number of circulating basophilic leucocytes increased during the CBH skin reaction.

2) The CBH skin reaction turned red 12 hr after challenge of the antigen, and reached a maximum in size at 24 hr. Then it disappeared completely at 96 hr. At 20 min. after rechallenge of the antigen, a crimson color was displayed at the site of the CBH skin reaction.

3) Basophils, mononuclear cells and neutrophils were infiltrated into the site of the CBH reaction and these cells reached a maximum number 24 hr after challenge of the antigen. Mast cells and their granules recovered after 96 hr.

4) Degranulation of infiltrating basophils, induced especially with rechallenge of the antigen, was observed as halo-formation and extracellular release of granules by light and electron microscopy.

In conclusion, these findings indicate that basophils in CBH reaction are sensitized with homocytotropic antibody, and that mast cells may have a factor for accumulation of basophilic leucocytes at the skin reaction site.