

## ラットにおける Arthus 反応の電子顕微鏡的研究

金沢大学大学院医学研究科病理学第一講座(主任 梶川欽一郎教授)

金 武 雄

(昭和46年2月10日受付)

Arthus 反応は強い血漿滲出, 白血球遊走, 出血, 壊死によって特徴づけられる炎症で, その反応の発現は局所における抗原と抗体との結合に基づくものと考えられている。しかし, これまでの多数の研究にもかかわらず, 反応の中軸をなす血管障害の病理発生についてはまだ多くの未解決な問題が残されている。とくに, 抗原と抗体が結合する部位やそれが炎症に対してもつ病理学的意義については明確にされていない。また血管反応を誘発する多数の **chemical mediator** が報告されているが, それらと形態学的所見との関連性もほとんど説明されていない<sup>1)</sup>。

近年, 電子顕微鏡(以下電顕と略する)を用いた研究によって Arthus 反応における血管反応が主として細静脈におこり, 血管透過性の亢進は内皮細胞間にギャップが生ずる結果であることが確立された。しかし, 抗原と抗体との結合部位については, 血管腔<sup>2)3)</sup>, 血管壁<sup>4)-6)</sup>, 血管周囲結合組織<sup>7)8)</sup>などがあげられ, 意見が対立している。また抗原は血清抗体と結合するばかりでなく感作動物の細胞にも直接障害を与えるかどうかという問題も未解決である。これは, 感作によって血管結合組織がどのような変化をうけるかという重要な問題の解明の糸口になる。抗原-抗体複合体(**antigen-antibody complex**)が起炎物質となり, 血清病類似の反応をおこすことが報告されているが<sup>9)</sup>, Arthus 反応の進展にどのような機序をもって関与しているかは明らかではない。白血球遊走については, これが血漿滲出とほとんど同時におこるという見解<sup>10)</sup>と, 血漿滲出のあとにおこるという見解<sup>11)</sup>がある。この問題は血管障害をおこす **mediator** の解明に重要な関係をもって来る。

Arthus 反応の電顕的研究で, まず必要なことは, 電顕的に容易に同定される抗原を使用することである。このため, フェリチン<sup>4)5)7)8)</sup>やペルオキシダーゼ<sup>3)</sup>を抗原として用いた研究が多くなった。フェリチンは抗フェリチン抗体と結合し, 特徴的形態をもつ沈降

物をつくるのが, 電顕的に確かめられている<sup>12)</sup>。

著者は, これらの研究方法を参考とし, フェリチンを抗原としてラットにおける Arthus 反応の電顕的観察を計画した。Arthus 反応は抗原と抗体との結合を基盤として展開されると考えられるので, 抗原-抗体複合体の形成とその運命に研究の焦点が向けられた。本論文では抗原-抗体複合体の初発部位, 複合体が血管結合組織に及ぼす形態学的変化, 複合体の形成と白血球遊出との関係および複合体の食細胞による貪食過程などについて観察した結果を記載し, これらの変化が Arthus 反応の進展に対してもつ意義について考察を加える。

### 実験材料と実験方法

実験動物には体重 100-120 g の Wistar 系雄ラットを用いた。

感作方法: 10%フェリチン溶液(Nutritional Biochemicals, Cleveland, Ohio.)と等量の complete Freund's adjuvant を混和し, その溶液 0.1 ml をラット腹腔内へ毎週2回の割合で2週間注射し, 約3週間後に再び同様の操作をくりかえし, 最終注射後, 7-10日頃に実験が行なわれた。

Arthus 反応: 上記感作ラットの耳の皮下組織へ抗原として用いたフェリチン溶液 0.1 ml を注射し, Arthus 反応をおこさせた。抗原注射後 1, 3, 10, 15, 30, 60分, 3, 6, 12, 24, 48, 72時間後にエーテル麻酔によって動物を殺し, 注射部位を切出して材料とした。

対照群: (1)非感作ラット耳にフェリチン溶液 0.1 ml を皮下注射し, 上記と同様の間隔で実験に供した。(2)感作ラットについて, 上述の効果注射を行なった耳と反対側の耳に 0.1 ml 生理的食塩水のみを注射し, 1, 3, 10, 15分の間隔で局所組織をとり実験材料とした。

電顕的観察: 切出されたラット耳の組織を冷却した

Electron Microscopic Study of Arthus Reaction in Rats. Takeo Kin, Department of Pathology (I) (Director: Prof. K. Kajikawa), School of Medicine, Kanazawa University.

2%オスミウム酸（ペロナール緩衝液で pH7.4 に調整）内で細切し、同様のオスミウム酸溶液内で、氷室（約 4°C）で 1 時間 30 分固定、エタノール系列で脱水、Epon 812 で包埋した。Fernández-Morán 型マイクローム（ライツ）で薄切された切片を酢酸ウラニールと硝酸鉛で染色した。試料は日立 HU-11 型および日本電子 JEM-7 型電顕で、直接倍率 3,000~10,000 で撮影した。

## 実験成績

### I. 対照群

Arthus 反応では血管反応が中心となるので、まず末梢血管の鑑別が問題となる。これについてはすでに詳しい研究が発表されている<sup>13)・16)</sup>。本研究においてはこれらの所見に準拠して毛細血管、細静脈および細動脈を区別した。鑑別の要点を簡単に述べるとおよそ次のとおりである。毛細血管は扁平な内皮細胞で被われ、ところどころ、周細胞で包まれる。細静脈は毛細血管に比べ内腔が広く、内皮細胞の表面は多少とも凹凸があり、より多くの dense body を含む。周細胞の数は多く、しばしば 2, 3 層をなして血管を包んでいる。基底膜は内皮細胞および周細胞を連続性にとりまいていて、しかし、一断面では細静脈と毛細血管との区別が容易でない場合がある。細動脈は内皮細胞の容積が大きく、内皮細胞下に明確な中膜平滑筋細胞をそなえている。

非感動物体にフェリチン注射後、経時的に観察すると、フェリチンは水腫状の細胞間質にびまん性に散在する。毛細血管や細静脈の内皮細胞と周細胞の間にもみとめられるが、基底膜の内にはフェリチンはほとんどみとめられない。細静脈内皮細胞においては、血管腔面および基底面の小突起と細胞間のうねりが多少増加する以外に著しい変化はみられない。基底膜は多少膨化するものがある。毛細血管や細動脈にはほとんど変化はみられない。内皮細胞内へのフェリチンのとりこみ、細胞間のギャップ、血管内腔のフェリチンの存在などはみとめられない。

注射後 30 分で、細胞間質に少数の多核球がみられることがある。組織球にはフェリチンを含む少数の胞食がみられる。肥満細胞の顆粒の放出はみられない。

感動物体に生理的食塩水を注射し、1~15 分後に局所を観察すると、毛細血管や細静脈の内皮細胞には多少とも細胞表面の凹凸と、細胞質の小胞の増加がみられる。まれに、細静脈内皮細胞の接合部のうねりが増し、細胞間にせまい間隙を生じているのがみられた。血管周囲の結合組織は水腫状を呈する。結合組織

細胞には形態学的変化はみとめられない。

### II. 実験群

#### 1. 注射後 1~3 分

この時期には細静脈と毛細血管に軽度の変化がみられる。内皮細胞はところどころ腫大を示し、細胞間の接合面にはうねりが多少とも多くなる。しかし、大きなギャップはみとめられない。細胞質小器管には著しい変化はないが、細静脈内皮細胞ではリボソームが増加する傾向がみられる。注射されたフェリチンの大部分は対照群と同じく、細胞間質にびまん性に散在している。ごく少量のフェリチンが毛細血管と細静脈の内皮細胞、および周細胞の小胞内にとりこまれていることがある。細動脈には変化はみられない。

注目すべき所見はフェリチンを含む高電子密度の等質性物質の凝集がときどき細静脈内皮細胞下と結合組織間質にみとめられることである（図 1, 2）。この凝集物は抗原-抗体複合体とみなされる。複合体の直径は 80~240 m $\mu$  でその数は少ない。血管壁においては、ほとんど全部内皮細胞と、周細胞との間に存在する。基底膜は膨化し、その輪郭が不鮮明となることがあるが、複合体が基底膜の上に付着している所見はなく、むしろ基底膜下で周細胞に接近している場合が多い。複合体に接する周細胞に特別な変化がみられない。ごくまれに、周細胞表面に複合体とともに細胞質の小破片が少数みられることがあるが、細胞質の小器管には著しい変化はみとめられなかった。

結合組織間質における抗原-抗体複合体は散在性に存在し、細胞や線維との間に特別な位置関係はみられない。複合体が散在する間質は水腫状で、線維は疎散する。コラゲン線維の周囲には注射されたフェリチンが吸着されるが、線維自体には構造的変化はみられない。弾力線維にも異常はみられなかった。

組織球にはフェリチンを含む空胞や高電子密度の内容をもつライソソーム様構造体が見られ dense body の増加が伴われる。まれに、細静脈周囲の組織球に細胞質の崩壊を思わせる像がみられた（図 3）。すなわち、細胞表面に分断された偽足様突起が多数にみられ、その周囲には細胞質の断片、dense body 様の小体が散在している。細胞周囲の結合組織は水腫状でフェリチンが散在しているが、抗原-抗体複合体はみられなかった。

#### 2. 注射後 10~15 分

この時期にみとめられる最も著しい変化は血管周囲における抗原-抗体複合体の増加である（図 4）。この変化は主として細静脈にみられるが、毛細血管の一部にもみとめられることがある（図 5）。細動脈にはみ

とめられない。

複合体は相互に融合し不整形を呈し、その中に多数のフェリチンの凝集物を含む。この特徴によって同時に顕著となる血漿滲出物とは区別される。この時期には複合体は内皮細胞下ばかりでなく、周細胞の間、さらにそれを越えて血管周囲にまで拡がってくる。

血管腔は拡大し、内皮細胞はむしろ扁平な形をとるものが多く、小胞の減少とリボソームの増加が目立つ。小胞内にはときどきフェリチンがとりこまれていく。まれに、内皮細胞間に生じた細胞間隙にフェリチンの集在をみとめることがある。細胞間接合面はうねりが多くなり、しばしば細胞間にギャップ（直径 0.1～1.0  $\mu$ ）がみとめられる（図6）。内皮細胞のギャップが生じる部位は明らかでない。ギャップの壁を作る内皮細胞がギャップのすぐ近くで他の内皮細胞と、“tight junction”で接合していることがあり、ギャップは必ずしも“tight junction”の開裂によるものではないようにみえる。ギャップの間には血管腔から高電子密度の等質性物質が内皮細胞下に滲出し、そこにさまざまな量のフェリチン凝集塊が混在している。

基底膜は複合体の介在によって、ところどころ断裂している。しかし基底膜自体に複合物が附着していることはない。小さな複合体が、ときどき、内皮細胞と基底膜との間に介在していることがあるが、多くの場合、複合体は基底膜の下で、周細胞表面から、その端に向かって広がり、周細胞の間で基底膜を破って血管周囲に浸潤している。周細胞にはしばしば粗面小胞体の拡大がみられる。しかし、内皮細胞や周細胞が複合体を貪食する証拠はない。

この時期に、まれであるが、細静脈内に血小板の集合がみられた。

細動脈の内皮細胞は腫大するが、細胞間のギャップ、血漿滲出または複合体の存在はみられない。

血管周囲の組織球にはフェリチンの貪食が増加する（図7）。肥満細胞では特殊顆粒の電子密度の低下や相互の融合がみられ、顆粒を含む空胞の拡大、細胞膜との融合による開口がおこり、顆粒はこの開口部から細胞外へ放出される（図8）。

### 3. 注射後30～60分

この時期で最も注目される所見は多核球の遊走である。多核球の遊走過程は従来の記載<sup>19)</sup>と全く同様であり、ここでは簡単に述べるに止める。多核球の遊走はもっぱら細静脈においてみられる。血管内の多核球はまず内皮細胞表面に膠着する。内皮細胞は腫大し、その間にギャップを生ずる。多核球はギャップの間に偽

足を出しつつその間を通過し、内皮細胞下に達し、ついで周細胞をおしのけるようにして血管外へ遊走する（図9、10）。

多核球が血管内皮細胞から遊出する部位には高電子密度の等質性物質やフィブリンがみられ、これらの物質の一部は多核球に貪食される。しかし抗原-抗体複合体が遊出部に共存することはまれである。内皮細胞のギャップから高電子密度の等質性物質が内皮細胞下に滲出していることがあるが、前時期のように多量のフェリチン凝集を伴うことはない（図11）。この時期では、抗原-抗体複合体は血管壁には少なく、大部分は血管周囲の疎散した線維間に多数の小塊として散在している。複合体の周囲には多核球がしばしば集合し、その中に多量の複合体が貪食される。

毛細血管には著しい変化はもはやみられない。細動脈内皮細胞が著しく腫大し、ほとんど血管腔を閉塞することがある。

組織球内にはフェリチンのほかに、抗原-抗体複合体を含む食胞がみられる（図12）。肥満細胞には前時期と同様な顆粒の変化と放出がみとめられる（図13）。

フェリチン注射後60分の材料で、リンパ管周囲に抗原-抗体複合体が集在し、管腔内に複合体がみとめられた（図14）。リンパ管内皮細胞は不規則な突起を管腔内に出すが、細胞内のギャップや複合体の貪食はみとめられなかった。

### 4. 注射後3～6時間

多核球の遊出はますます著明となる。この時期には遊出した多核球の周囲に抗原-抗体複合体が多量にみられ、多核球の偽足によってとりかこまれる。多核球内には抗原-抗体複合体を満した食胞が多量にみられる（図15）。食胞内に複合体とともに好中球顆粒が含まれていることがある。食胞の形は不整形で大きさもさまざまである。食胞の増加とともに好中球顆粒やミトコンドリアは減少する。

組織球には濃縮したフェリチン粒子を充満したライソソーム様小体が増加する。その他、抗原-抗体複合体をとりこんだ食胞もみられる。

肥満細胞はほぼ正常の構造を示し、顆粒の放出はみとめられない。

コラーゲン線維の間にも多量の抗原-抗体複合体がみられるが、線維には構造的変化はみとめられない（図16）。

### 5. 注射後12～24時間

血管反応はほとんど終熄し、細静脈内皮細胞には小胞が増加し、細胞表面の著しいうねりや細胞間のギャップはみられなくなる。抗原-抗体複合体は血管壁に

はほとんどみられず結合組織内に散在しているにすぎない。血管周囲に遊走した多核球には抗原-抗体複合体を含む貪食空胞がなお多数みられる。前時期に比べフェリチン粒子は濃縮するものが多い。またほとんど等質性の高電子密度の内容をもつ“residual body”をつくるものもみられる。

組織球には前時期と同様に濃縮したフェリチン粒子を含むライソソーム様小体がますます増加し、同時に dense body の減少がみとめられる (図17)。

リンパ管はほとんど正常構造を示し、内腔に抗原-抗体複合体はみられない。

#### 6. 注射後48~72時間

結合組織間質にフィブリンを含む滲出液、多核球およびときどき赤血球がみとめられる。多核球には貪食された抗原-抗体複合体を満した多数の食胞がみとめられる。ここでも食胞内に好中球顆粒が共存している像に遭遇する (図18)。貪食が進むと食胞内は高電子密度のほとんど等質性物質で満たされ、フェリチン粒子は識別しにくくなる。このような多核球には顆粒は著しく減少し、ときどき脂肪顆粒が出現する。

組織球は前時期と大差なく、フェリチン粒子を充満した多数のライソソーム様小体を有する。この時期には粗面小胞体の発育の良好な線維芽細胞が散見されるが、抗原-抗体複合体やフェリチンの貪食はみられない。

血管内皮細胞はほとんど正常状態にもどる。一部の細静脈に血小板の凝集からなる血栓がみとめられた (図19)。

## 考 察

### 1. 血管反応の局在

本研究において観察された血管反応 (血漿タンパクの滲出と多核球の遊出) の過程の要点は、①血管反応はほとんど細静脈に限られ、②注射後短時間で血管透過性の亢進が起こり、血管壁に抗原-抗体複合体がみられ、③ついで多核球の遊出がおこることである。

血漿タンパクの滲出は注射後10~15分で頂点に達し、多核球の遊出はそれよりおくれで始まり、3~6時間に最も顕著にみとめられた。24時間以後では血管反応はほとんど終熄した。この経過は従来の報告<sup>11)</sup>と本質的には一致する。反応が全体に弱いのはラットが感作されにくい動物であることによるものであろう。

血管反応がおこる部位については炎症の種類によって多少の差異はあるが、即時反応ではほとんど細静脈に限られていることは多くの研究によって確立されている<sup>2)6)8)</sup>。遅延反応では血管反応のおこる部位はかな

り複雑で、Cotran ら<sup>20)</sup>は細静脈ばかりでなく、毛細血管にもおこりうると述べている。Herley ら<sup>21)</sup>はテルベン油による炎症では、最初の10分間は細静脈、45分後には細静脈と毛細血管におこり、その後は主として細静脈に限られることを報告している。著者の観察では、抗原注射後10~15分でごく一部の毛細血管内皮細胞下にも少量の抗原-抗体複合体がみとめられることがあったが、ほとんどすべての場合に、血漿タンパクの滲出と多核球の遊出がおこる部位は細静脈であることが確められた。

### 2. 抗原-抗体複合体の形成とその運命

Arthus 反応における重要な所見の一つは抗原-抗体複合体の形成である。対照群では、注射されたフェリチンは細胞間質にびまん性に散在しているが、感作動物では、フェリチン凝集物を含む高電子密度の物質の集積がみられる。同様の物質は他の研究者<sup>5)・8)</sup>によって認められており、また *in vitro* で、フェリチンと抗フェリチン抗体によって全く同様な沈降物がつくられることが電顕的に確かめられているので<sup>12)</sup>、本研究においてみとめられた上記のフェリチンを含む凝集物は抗原-抗体複合体とみなしてよいと思われる。

Arthus 反応の際、この抗原-抗体複合体が最初に出現する部位の決定は、感作動物における抗体の所在や炎症反応の発現機序を理解するうえで重要である。しかし、この問題については意見が対立している。血管内腔<sup>2)3)</sup>、血管壁<sup>4)5)</sup>、血管壁と血管周囲組織<sup>8)</sup>、さらに血管周囲結合組織<sup>7)</sup>のみに出現するというさまざまな成績が報告されている。

著者の観察では、最初に抗原-抗体複合体がみとめられる場所は、動物によって、また同一動物でも部位によってかなりの差異があったが、フェリチン再注射後1~3分では細静脈内皮細胞の基底膜下と、血管周囲結合組織内にみとめられた。10~15分では、内皮細胞基底膜下の複合体の量は増加し、血管周囲結合組織内に広がっていくことが観察された。血管内腔には複合体はみとめられなかった。

フェリチン再注射直後 (1~3分) では血管壁と結合組織間質にみられる抗原-抗体複合体の量に差異はないか、むしろ後者に多い場合もあり、また血管内皮細胞にも、透過性亢進を示唆する形態学的変化はみとめられない。これは10~15分後にみられる血管内皮細胞のギャップの形成を伴った血管壁における多量の複合体の沈着、およびそれにつづいて結合組織内への複合体の浸潤の状態と比べると、量的にも分布のうえからもかなり異なっている。

感作動物に生理的食塩水を注射した局所では、ごく



まれであったが、細静脈の内皮細胞の間にせまいギャップがみられた。この所見から、感作動物では内皮細胞間の結合が多少とも変化し、注射による機械的刺激によって結合がゆるくなる可能性が考えられる。もし、この推定が正しいとすれば、フェリチン再注射の際にみられた初期の抗原-抗体複合体は機械的刺激による血管透過性の亢進が考慮されなければならない。しかし、このような変化があるとしても、その程度は甚だ小さく、その後に見られる明らかな血管透過性亢進とは区別すべきものと考えられる。

Grant ら<sup>7)</sup> および Sabesin ら<sup>4)5)</sup> は抗原-抗体複合体は血管周囲結合組織間質にのみ認められたという所見に基づいて、複合体は感作動物では結合組織内にすでに存在する抗体との結合によって生じるものと推定した。Gitlin ら<sup>22)</sup> は蛍光抗体法によって、血漿タンパクは多くの細胞や結合組織間質に広く存在することを示した。この成績からみると、感作動物において、すでに血清に由来する抗体が結合組織間質に浸潤している可能性がある。

抗原と抗体との結合は抗原と抗体の量的関係によって左右されることはよく知られている<sup>23)24)</sup>。感作動物において、血管から結合組織内に血漿が浸潤するとすれば、抗体の濃度勾配は血管壁から間質に向かって低下するはずである。一方、再注射されたフェリチンの濃度勾配は血管に向かって低いと考えられる。従って抗体量と抗原量の至適な部位に複合体が最もよく形成されるものと思われる。

さらに、抗原の分子量が抗原-抗体複合体の分布に影響するといわれる<sup>7)25)</sup>。血管腔内における複合体の形成は血管壁を容易に通過する低分子抗原を用いた場合におこるものと思われる。実際、従来の報告をみても、フェリチンのような高分子抗原(約 500,000)より、ウシ血清アルブミン(分子量69,000)やペルオキシダーゼ(分子量40,000)のような低分子抗原を用いた場合に、しばしば血管内に抗原-抗体複合体の形成が観察されている。本研究では、少数ではあるが、局所に注射されたフェリチンが血管腔内にとめられることがあった。血管外のフェリチンが血管壁を通過する経路は明らかではない。ごく少数のフェリチンが内皮細胞の小胞内にとめられるがライソソームの増加や、小胞内のフェリチンの凝集はみとめられないので、これはフェリチンが内皮細胞内を血管腔へと通過する像を現わしているのかも知れない。いずれにせよ、著者の実験条件では、血管内に転送されるフェリチンの量は決して多くはない。これが血管腔に抗原-抗体複合体がほとんど形成されなかった理由である

と思われる。

以上の考察から、再注射直後(1~3分)から血管透過性の亢進がおこることを否定することはできないが、少なくともこの時期にみられる抗原-抗体複合体の形成には、感作によってあらかじめ局所に浸潤した抗体が主な役割をもつものと考えるのが妥当であろうと思われる。

注射後10~15分でみられる複合体の形成は注射直後のそれとは異なっている。この時期では複合体は明らかに血管壁に集積し、血管内皮細胞の間にギャップを生じ、血管透過性が亢進した結果、抗体を含む多量の血清タンパクが滲出したことを物語る。

炎症における血管透過性の亢進は内皮細胞間にギャップが生ずる結果であることは多くの研究によって確立されている。しかし、このギャップがおこる部位およびその機序については現在、推測の域を脱しない。ギャップは2~3個の内皮細胞の接合部に好発することはみとめられているが<sup>26)27)</sup>、内皮細胞間の“tight junction”がはなれるかどうかは不明である。著者の観察では、内皮細胞のギャップに接近して、内皮細胞間の“tight junction”がみられることがある点から、ギャップの形成には必ずしも“tight junction”の開裂を必要としないように思われる。

血管内皮細胞間のギャップから滲出した抗体はギャップの間、または内皮細胞下で抗原-抗体複合体をつくる。基底膜は一般に血管壁の関門として作用し、そこを通過する物質を保留するものと考えられている<sup>28)-31)</sup>。少数の複合体が基底膜をおしのけるように内皮細胞と基底膜の間に介在している所見から、基底膜がこのような凝集物に対してはある程度の抑留作用をもつものと推定される。しかし基底膜自体に抗原-抗体複合体の付着がみとめられなかった事実は、基底膜は抗原(フェリチン)や抗体の程度の大きさの分子を抑留する能力がほとんどないことを暗示している。

Cotran ら<sup>32)</sup> は炎症において、血管透過性が亢進した場合、基底膜が周細胞をかこむように分かれている部位で、多核球や血管内に注入された粒子が基底膜を突破することを述べている。本研究においても、周細胞の内側に集合した抗原-抗体複合体はしばしば周細胞の両端で基底膜を破り血管周囲に広がっていることが観察された。基底膜はこの部分で抵抗が弱いのかも知れない。

抗原-抗体複合体は多核球および組織球によって貪食される。とくに多核球による貪食が著しい。Movat ら<sup>33)</sup> は抗原-抗体複合体は白血球減少症では局所にながく止まることを観察し、複合体の処理に対する多核

球の役割を強調している。本研究においても、再注射後30～60分で多数の多核球が遊走し、抗原-抗体複合体の周囲に集合し、細胞質には複合体を含む多数の食胞がみられる。同時に好中球顆粒減少が起こり食胞内にとどき顆粒が共存している。この所見は、食胞内に転送された顆粒のライソソーム酵素によって細胞内消化が行なわれることを暗示している<sup>34)35)</sup>。組織球と異なって、貪食に伴う顆粒の増加はみられない。おそらく、多核球における細胞内消化は既存の顆粒の消費によってのみ行なわれ、顆粒を再生する能力はないものと考えられる。

組織球による複合体の貪食は多核球より少ない。これは組織球がすでに注射されたフェリチンをかかりに貪食しているためと、複合体に対する chemotaxis の差によるものと思われる。複合体の貪食とともに組織球の dense body (ライソソーム) は増加するが、多数の食胞が形成される時期には、dense body は減少する。組織球における細胞内消化も dense body のライソソーム酵素が食胞内に転送されることによっておこることが知られているので<sup>36)</sup>、dense body の減少は細胞内消化の進行を意味するものと解釈される。この時期の組織球内の食胞はフェリチン粒子で満たされた類円形の小体に変る。この像はヘモジデリンの合成を表わしているのかも知れない<sup>36)</sup>。これに対し、多核球の食胞は不整形の輪郭をもち、内部のフェリチン粒子が次第に消失する。これらの所見から、組織球と多核球とで複合体の処置過程が異なっていることが暗示される。

リンパ管の内にまれに抗原-抗体複合体がみつめられた。Grant ら<sup>1)</sup>はリンパ管内に複合体を貪食した多核球の存在を観察している。複合体がリンパ管に吸収される機構は明らかではないが、リンパ管によって抗原-抗体複合体が除去されうことは事実であると思われる。

### 3. 血管反応の発生機序

本研究で注目された所見は、多核球の遊出は血漿タンパクの滲出よりおくれで発現し、多核球の遊出がおこる内皮細胞間のギャップの部位には、必ずしも抗原-抗体複合体がみられないことである。Movat らは白血球の遊走は注射直後(3分以内)に起こることを観察し、Uriuhara ら<sup>2)</sup>は多核球が集合する場所と抗原-抗体反応がおこる場所が一致することを報告している。しかし本研究では、多核球の遊出と血漿タンパクの滲出の時期と部位が同一でないことが示された。この差異は実験条件の差異によるものかも知れない。いずれにせよ、多核球の遊出と血漿タンパク滲出が時

間的にも部位的にも異なるとすれば、この二つの血管反応が別個の機序でおこる可能性が強く示唆される。林およびその共同研究者<sup>1)</sup>は炎症における chemical mediator の詳細な解析に基づいて、血漿タンパクの滲出は多核球の遊走に先行し、前者は即時型と遅延型の2相に分かれ、即時型はヒスタミン、遅延型はペプチッド(vasoexcin)によって誘発され、白血球遊出はこれとは異なったペプチッド(leukoegresin)によって誘発されることを主張している。著者の上述の所見は林らの見解に間接的証拠を与えるものと考えられる。

Arthus 反応初期における血管透過性の亢進の主な原因は血管内皮細胞間にギャップが生じる結果であることはすでに述べたとおりであるが、同様な型の内皮細胞のギャップはヒスタミンやセロトニン注射によってもおこることが知られている<sup>31)37)38)</sup>。Majno ら<sup>31)</sup>はこのギャップは内皮細胞の収縮に基づくことを推論した。本研究でみられる内皮細胞間のギャップの発生にもおそらくヒスタミンタイプの mediator が関与しているものと推測される。

ヒスタミンやセロトニンの起源として、血小板と肥満細胞が考えられる。Mustard ら<sup>39)</sup>は抗原-抗体複合体によって血小板が凝集し、セロトニンが遊離されることを報告している。Arthus 反応において血小板凝集を伴う血栓がみられることはよく知られた事実である<sup>2)</sup>。しかし、著者の観察では、血小板凝集は注射後10～15分で、まれに観察されたが、最も顕著にみられたのは反応の末期(72時間)であり、そこには血管内皮細胞の変化はみられなかった。血小板の凝集は恐らく、Uriuhara ら<sup>2)</sup>の指摘するように破綻した血管を封じる役割を果たしているものと推定される。

アレルギー反応における肥満細胞の役割はまだ確立されていない。アナフィラキシーに肥満細胞顆粒の融解がおこり<sup>40)</sup>、形態学的にも肥満細胞顆粒に変化がみられ<sup>41)</sup>、また、抗原刺激で一過性の肥満細胞増多症がみられる<sup>42)</sup>などの成績はアレルギー反応と肥満細胞との関係を示唆する。しかし、Lovett ら<sup>43)</sup>は皮膚受動的アナフィラキシーは抗ヒスタミンや抗セロトニンで抑制されないことから、肥満細胞の関与を疑問視している。この問題に関係して、本研究において、再注射直後から60分までの時期に血管周囲の肥満細胞に顆粒の放出がみられたことは興味がある。顆粒の変化は、Nelson ら<sup>41)</sup>の記載にはほぼ一致し、顆粒相互の融合、電子密度の低下があり、顆粒を含む空胞が細胞膜との融合によって開口し、顆粒が細胞外に放出される像が見られた。このような顆粒の放出は対照群や反応の

後期ではみとめられないので、初期の血管反応を誘発するヒスタミンやセロトニンの供給に関する可能性が強く暗示される。一方、McGovern<sup>44)</sup>は肥満細胞の顆粒放出が内皮細胞の細胞表面にある多糖体被膜の産生を高め、Florey<sup>19)</sup>はこの被膜の増加が多核球の膠着に関係があると考えている。これらのデータを総合すると、肥満細胞の変化は血管反応の進行に重要な役割をもっていることが推定される。

しかし、ヒスタミンの効果は一過性であることが知られており<sup>11)</sup>、血管反応を進行させるためには、その他のさまざまな化学的因子の関与が提唱されている<sup>11)</sup>。

林ら<sup>45)</sup>は、遅延型血管透過性の亢進を誘発する vasoexcin は、抗原注射後短時間で、組織球性細胞から遊離するものと推定し、そのとき細胞には細胞膜運動の急激な低下、呑飲の低下および原形質流動の低下がおこることを位相差顕微鏡映画によって観察した。著者の静的電顕像からはこのような細胞の動的変化を帰納することは困難であるが、再注射後3分で、細静脈周囲の組織球に細胞質の崩壊を思わせる像に遭遇したことは興味がある。しかし、このような像はまれであり、これが抗原注射によって生じた特異的像であるという証拠はない。この問題については今後の検討が必要であろう。

アレルギー反応では抗原-抗体複合体の形成が特異的であるが、この複合体の生物学的作用についてはまだ明らかでない。複合体が多核球の遊走を促し、炎症の持続に関係をもっていることが推定されている<sup>38)46)</sup>。しかし、その機序の詳細は不明である。山本ら<sup>48)</sup>は、白血球遊走因子 (leukoegresin) は vasoexin によって滲出した IgG が SH-プロテアーゼの作用によって生成されるものと述べている。

著者の観察では、再注射後30~60分で多量の抗原-抗体複合体がみられたが、この物質が組織成分に直接障害作用を与えることを示唆する証拠はえられなかった。既述の肥満細胞顆粒の放出や組織球の崩壊に際して、細胞周囲に抗原-抗体複合体が集在する所見はない。複合体がコラゲン線維や弾力線維の間に存在する場合にも、これらの線維に形態学的変化はみられなかった。この所見は、Movat<sup>39)</sup>の成績に一致する。

Movat およびその協同研究者<sup>6)49)</sup>はアレルギー性炎に関する広範な研究に基づいて、抗原-抗体複合体を貪食した多核球から遅延型反応を誘発する物質が遊離することを報告し、この物質は貪食された複合体の分解産物としてのペプチド、または食胞に転送された好中球顆粒からの水解酵素に由来するものと考えた。既述のように、多核球では抗原-抗体複合体の活発な

貪食がみられ、同時にミトコンドリアや顆粒の減少と、ときどき脂肪顆粒の出現が伴われる。このような多核球は容易に崩壊するものと考えられ、そこから炎症反応を維持させる物質が供給されることは十分ありうることである。多核球のライソソームの炎症における役割は今後に残された興味ある問題である。

## 結 論

フェリチンで感作されたラット耳に Arthus 反応を惹起させ、その血管反応を電顕的に観察し、次の成績をえた。

1. 血管反応 (血漿タンパクの滲出と多核球遊出) はほとんど常に細静脈に発現した。
2. 効果注射後短時間で (15分以内) 細静脈内皮細胞間にギャップを生じ、血管壁に抗原-抗体複合体の集積がみられた。
3. 多核球遊出は血漿滲出よりおこれて発現し、血漿滲出とは別個の因子で誘発されることが示唆された。
4. 効果注射直後に (3分以内)、少量の抗原-抗体複合体が血管壁および結合組織間質にみとめられた。これは感作によって血管から滲出した抗体の存在に基づくものと解釈された。
5. Arthus 反応の初期に (60分以内)、肥満細胞顆粒の放出がみられた。
6. 抗原-抗体複合体の大部分は多核球および組織球によって貪食され、一部はリンパ管によって運び去られるものと考えられた。
7. 抗原-抗体複合体が結合組織の細胞や線維に直接障害を与えるという証拠はえられなかった。

稿を終るに当たり、御指導と御校閲を賜りました恩師、堀川欽一郎教授に心から感謝の意を表します。また、研究遂行に際して御助言、御協力を頂きました教室員各位と電子顕微鏡室技術員の方に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Cochrane, C. G. : In *The Inflammatory Process* (ed. Zweifach, B. W., Grant, L. & McCluskey, R. T.), P. 613, New York, Academic Press, 1965.
- 2) Uriuhara, T. & Morat, H. Z. : *Lab. Invest.*, 13, 1057 (1964).
- 3) Venkatachalam, M. A. & Cotran, R. S. : *Lab. Invest.*, 23, 129 (1970).
- 4) Sabesin, S. M. & Banfield, W. G. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 107, 546 (1961).
- 5) Sabesin, S. M. & Banfield, W. G. : *Amer. J. Path.*,

- 42, 551 (1963). 6) Uriuhara, T. & Movat, H. Z. : *Exp. Mol. Path.*, 5, 539 (1966). 7) Grant, L., Ross, M. H., Moses, J., Prose, P., Zweifach, B. W. & Ebert, R. H. : *Z. Zellforsch.*, 77, 554 (1967).
- 8) Fernando, N. V. P. & Movat, H. Z. : *Amer. J. Path.*, 43, 381 (1963). 9) Cochrane, C. G. & Weigle, W. O. : *J. Exp. Med.*, 108, 591 (1958). 10) Movat, H. Z. : *Verh. Dtsch. Ges. Path.*, 46, 48 (1962).
- 11) Hayashi, H., Yoshinaga, M., Koono, M., Miyoshi, H. & Matsumura, M. : *Brit. J. Exp. Path.*, 45, 419 (1964). 12) Easty, G. C. & Mercer, E. H. : *Immunology*, 1, 353 (1958). 13) Bennett, H. S., Luft, J. H. & Hamdton, J. C. : *Amer. J. Physiol.*, 196, 381 (1951). 14) Palade, G. E. : *Circulation*, 24, 368 (1961). 15) Movat, H. Z. & Fernando, N. V. P. : *Exp. Mol. Path.*, 2, 549 (1963). 16) Fernando, N. V. P. & Movat, H. Z. : *Exp. Mol. Path.*, 3, 1 (1964). 17) Fernando, N. V. P. & Movat, H. Z. : *Exp. Mol. Path.*, 3, 87 (1964). 18) Movat, H. Z. & Fernando, N. V. P. : *Exp. Mol. Path.*, 3, 98 (1964).
- 19) Florey, H. W. & Grant, L. H. : *J. Path. Bact.*, 82, 13 (1961). 20) Cotran, R. S. & Majno, G. : *Amer. J. Path.*, 45, 261 (1964). 21) Herley, J. V. & Spector, W. : *J. Path. Bact.*, 89, 245 (1965).
- 22) Gitlin, D., Landing, B. H. & Whipple, A. I. : *J. Exp. Med.*, 97, 163 (1953). 23) Benacerraf, B. & Kabot, E. A. : *J. Immunology*, 64, 1 (1950). 24) Stavitsky, A. B. : *J. Immunology*, 72, 360 (1954).
- 25) van den Berg, C., Oort, J. & van Rijssel, Th. G. : *Immunology*, 10, 1 (1966). 26) Movat, H. Z. & Fernando, N. V. P. : *Amer. J. Path.*, 42, 41 (1963). 27) Cotrane, R. S. : *Amer. J. Path.*, 46, 589 (1965). 28) Florey, H. Z. : *Quart. J. Exp. Physiol.*, 49, 117 (1964). 29) Farquhar, M. G., Wissig, S. L. & Palade, G. E. : *J. Exp. Med.*, 113, 47 (1961).
- 30) Cotran, R. S. & Majno, G. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 116, 750 (1964). 31) Majno, G. & Palade, G. E. : *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 11, 571 (1961). 32) Cotran, R. S., Gattuta, M. L. & Majno, G. : *Amer. J. Path.*, 47, 1045 (1966).
- 33) Movat, H. Z., Fernando, N. V. P., Uriuhara, T. & Weiser, W. J. : *J. Exp. Med.*, 118, 557 (1963). 34) Hirsh, J. G. : *J. Exp. Med.*, 116, 827 (1962). 35) Uriuhara, T. : *Fed. Proc.*, 23, 390 (1964).
- 36) 中西功夫 : 十全医学会誌, 76, 472 (1968). 37) Clementi, F. & Palade, G. E. : *J. Cell. Biol.*, 42, 706 (1969). 38) 梶川欽一郎・中西功夫・林 信次 : 日病会誌, 56, 155 (1967).
- 39) Mustard, J. F. & Movat, H. Z. : *Fed. Proc.*, 23, 548 (1964). 40) Mota, I. : *Int. Rev. Cytol.*, 15, 363 (1963). 41) Nelson, R. L., Katz, H. I. & Zelikson, A. S. : *Ann. Allerg.*, 26, 281 (1968). 42) Cottier, H., Odartchenko, N. Keiser, G., Hess, H. & Stoner, R. D. : *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 113, 612 (1964). 43) Lovett, C. A. & Movat, H. Z. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 122, 991 (1966). 44) McGovern, V. J. : *J. Path. Bact.*, 71, 1 (1956). 45) 林 秀男 : 日病会誌, 56, 37 (1967). 46) Opie, E. L. : *J. Immunology*, 9, 259 (1924). 47) Germuth, F. G., Maumenee, A. E. Sinterfit, L. B. & Pollack, A. D. : *J. Exp. Med.*, 115, 919 (1962). 48) 山本俊輔・吉永 秀・神野 崇・林 秀雄 : 生体の制御機構 (医学のあゆみ編), 第1版, 337頁, 東京, 医事薬出版, 1970.
- 49) Movat, H. Z. & Uriuhara, T. : *Life Science*, 3, 1025 (1964).

## 附 図 説 明

図1. 効果注射後3分. 細静脈の内皮細胞(Ed)の腫大とリボソームの軽度の増加があり, 抗原-抗体複合体(A)が内皮細胞下にみられる. Pc: 周細胞, Bm: 基底膜.  $\times 30,000$

図2. 効果注射後3分. 抗原-抗体複合体(A)が結合組織間質にみられる. Co: コラゲン線維  $\times 20,000$

図3. 効果注射後3分. 細静脈(V)周囲の組織球(Hs)における細胞質の崩壊.  $\times 9,000$

図4. 効果注射後15分. 抗原-抗体複合体(A)が細静脈内皮細胞(Ed)と周細胞(Pc)との間から血管

周囲に広がっている。×20,000

図5. 効果注射後15分. 抗原-抗体複合体 (A) が毛細血管壁 (Bc) にみられる. Ed: 内皮細胞, Pc: 周細胞. ×15,000

図6. 効果注射後15分. 細静脈の内皮細胞 (Ed) 間のギャップ (矢印) および内皮細胞下に抗原-抗体複合体 (A) が存在. L: 血管内腔. ×20,000

図7. 効果注射後15分. 組織球内のフェリチンを食胞 (Ph) と dense body (D). ×30,000

図8. 効果注射後15分. 肥満細胞の顆粒の電子密度の低下, 相互の融合, 顆粒を含む空胞の拡大がみられ, 空胞は細胞外へ開口し, 顆粒が細胞外へ放出される (矢印). ×15,000

図9. 効果注射後30分. 細静脈内皮細胞 (Ed) の間にギャップを生じ, 多核球 (pl) は, その間に偽足をのばしている. L: 血管腔, Pc: 周細胞. ×12,000

図10. 効果注射後60分. 細静脈内皮細胞 (Ed) 間のギャップを通り, 多核球 (P1) が血管外へ遊走. L: 血管腔. ×9,000

図11. 効果注射後60分. 細静脈内皮細胞 (Ed) 間のギャップを通り, 高電子密度の等質性物質 (矢印) が血管壁に浸潤. Pc: 周細胞. ×15,000

図12. 効果注射後60分. 組織球における抗原-抗体複合体を入れた食胞 (Ph) と dense body (D) の増加. ×20,000

図13. 効果注射後30分. 肥満細胞 (M) からの顆粒 (g) の放出. ×8,000

図14. 効果注射後60分. リンパ管 (L) の周囲と管腔内に抗原-抗体複合体 (A) がみられる. Ed: リンパ管内皮細胞. ×20,000

図15. 効果注射後3時間. 抗原-抗体複合体 (A) の多核球 (P1) による貪食. ×20,000

図16. 効果注射後3時間. コラゲン線維 (Co) 間に抗原-抗体複合体 (A) が存在するが, 線維に構造的変化はみられない. ×40,000

図17. 効果注射後24時間. 濃縮したフェリチン粒子を含む多数のライソソーム様小体 (Ly) をもつ組織球. ×8,000

図18. 効果注射後48時間. 抗原-抗体複合体を貪食した好中球 (P1). ×6,000

a, b: 抗原-抗体複合体を含む食胞内に好中球顆粒がみられる (矢印). ×21,000

図19. 効果注射後72時間. 細静脈における血小板 (Bp) の凝集, R: 赤血球, Ed: 内皮細胞. ×6,000

#### Abstract

The direct active Arthus reaction in rats immunized against ferritin has been studied by electron microscopy with special reference to the vascular changes. The results were as follows.

(1) The vascular reaction (plasma diapedesis and leukocyte emigration) was observed nearly always at the level of the venules.

(2) Within first 3 minutes, a small amount of antigen-antibody complexes was observed in the vascular walls and the interstitial spaces. This fact was thought to be due to the presence of the antibody exudating from the immunized rat vessels.

(3) Within 15 minutes a large amount of antigen-antibody complexes was observed in venule walls where gaps had formed between adjacent endothelial cells.

(4) The emigration of polymorphonuclear leukocytes occurred behind the exudation of the plasma protein, suggesting that the leukocyte emigration might be induced by some different mediators from those in plasma exudation.

(5) Within 60 minutes, release of the mast cell granules was demonstrated.

(6) Antigen-antibody complexes were phagocytized by both polymorphonuclear leucocytes and histiocytes, and, in part, appeared to be removed through the lymphatics.

(7) There was no evidence suggesting that the antigen-antibody complexes injured directly the fibers and the cells in the connective tissue.























