鼻アレルギー鼻粘膜好塩基性細胞の研究 —— 第6報 好塩基球と肥満細胞の関係 ——

日本医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：奥田 稔教授）
大塚 博 邦，奥 田 稔，坂 口 喜 清

STUDIES OF BASOPHILIC CELLS IN NASAL ALLERGY PART VI. RELATIONSHIP BETWEEN BASOPHIL AND MAST CELL

HIROKUNI OHTSUKA, M. D., MINORU OKUDA, M. D.
and YOSHIKIO SAKAGUCHI, M. D.

Department of Otorhinolaryngology, Nippon Medical School, Tokyo

Basophils and mast cells appear in the nasal mucosal surface of nasal allergic patients and play an important role in nasal symptom. In order to investigate the relationship between basophil and mast cell in the nasal mucosal surface, we studied changing of these cells in numbers after nasal provocation by putting on the mucosal surface with Japanese cedar powder into the nasal cavities of Japanese cedar pollinosis patients. After nasal secretions were smeared on slideglass by blowing and specimens were taken from the nasal mucosal surface by scraping with small curette and stained by Hansel's solution, under a light microscopy, we regarded the cells those were small and contained the larger but a fewer granules and had the lobulated nucleus as the basophils, and the other typed cells those were larger and contained the smaller but more granules and had mononucleus as the mast cells.

As a result, the number of blood basophils decreased 1 hour later and increased again 2 hours later after the provocation, but basophils in the scraping specimens on the mucosal surface and nasal secretion remarkably increased, however, the mast cells almost not changed.

From these results, it is considered that the basophils emigrated in the nasal mucosal surface from blood vessel as the complementary role for the mast cells.

Key words: Nasal allergy, Nasal surface, Basophil and mast cell

A87—0141—32821

はじめに

好塩基球と肥満細胞はI型アレルギーにおいてIgEのtarget cellとして抗原と反応してchemical mediatorsを遊離し、発症に重要とされているが、両者の相互関係は不明である。

鼻アレルギーにおいては鼻粘膜表層部に非アレルギーではほとんど出現しない好塩基性細胞（好塩基球、肥満細胞）が多数出現し¹⁾²⁾、これらの細胞が発症のトリガ

ーとして重要であると著者らは述べてきた。また鼻粘膜表層に出現するこれらの細胞のうち、粘液層内には好塩基球が、上皮層には肥満細胞が多く分布することが判明している³⁾⁴⁾。

今回、著者らはスギ花粉症を対象として抗原による鼻誘発反応前後の鼻汁中、鼻粘膜上皮層内の好塩基球、肥満細胞の数の変化、末梢血中好塩基球数の変動をみることによって両者の関係を検討した。

対 象

日本医科大学耳鼻咽喉科アレルギー外来を受診し、問診、皮内テスト、鼻誘発テストからスギ花粉単独感作症例と診断した17名で、年齢は15～35歳（平均30歳）、男4名、女13名である。以下の実験は昭和57年3月～4月に行った。

方 法

1. スギ花粉末による鼻粘膜誘発

約1mgのスギ花粉末を患者の両側下鼻甲介前端付近に散布した。数分以内でくしゃみ、水性鼻漏、鼻閉などの症状が発現したが、口呼吸をさせ、擤鼻や鼻汁の後鼻腔への吸引を禁じた。

2. 末梢血中好塩基球の算定

鼻誘発前、1時間後、2時間後において、患者の前腕部より静脈血1～2mlをプラスチック製注射器で採取し、木村の方法で1ml中の好塩基球数を算定した。

3. 鼻汁中好塩基性細胞の定量

既に著者らが報告した判定法⁶⁾に従った。すなわちパラフィン加工薬包紙を用いて擤鼻により採取した鼻汁をスライドグラス上に塗布し、乾燥後純メチルアルコールで固定し、ハンセル液で30～40秒間染色の後、数秒間水洗、メチルアルコールで脱色、キシレンで透徹、ピオライトで封入し、以下のような程度判定を行った。メタクロマジー陽性顆粒をもつ細胞を対象に400倍顕微鏡下に(－): 全くない、(＋): 数視野内に1～3個認める、(＝): (＋)と(＝)の間、(＝): 5～10個の集合した視野がある、(＝): 11個以上の集合した視野がある。

4. 下甲介粘膜表面擦過片中好塩基性細胞数

下甲介前端付近を小両頭鋭匙で軽く擦過して採取した約4mm³(面積)×30μm(厚さ)の粘液上皮層をスライドグラス上に、うすくのぼすようにして塗布し、乾燥後、純メチルアルコールで固定、鼻汁の染色と同様にハンセル染色、脱色、透徹、封入を行い400倍顕微鏡下で好塩基性細胞数をカウントした。すべての患者について、両側下甲介の擦過片中の全細胞数を算定した。

5. 好塩基球と肥胖細胞の鑑別

写真1, 2, 3に示すように好塩基球は小型で、メタクロマジー陽性顆粒は少数で比較的偏在性であり、分葉核のものもある。これに対し、肥胖細胞は大型で、メタクロマジー陽性顆粒は多く含有し、均一に分布する。これらの点を考慮して鑑別したが、細胞破壊のため鑑別の困難なものはカウントから除外した。

写真1 擦過片中(上皮層中)好塩基性細胞 (×400)

(←): 大型で特異顆粒を密に含む、肥胖細胞。
(—): 判定不能。

写真2 擦過片中(上皮層中)好塩基性細胞 (×400)

(＝): 小型で、特異顆粒は粗、偏在性、好塩基球と考えられる。(—): 判定不能。

写真3 擦過片中(粘液層内)好塩基性細胞 (×400)

(←): 肥胖細胞。 (＝): 好塩基球。
(—): 判定不能。

6. 好酸球の算定

血中好酸球についても木村らの方法で 1mm^3 中の好酸球数をカウントし、鼻汁中および下甲介粘膜表面擦過片中好酸球数については奥田の判定法⁷⁾によって程度分けをした。

結 果

実験結果は表 1 に示した。これを項目ごとに検討すると以上のごとくである。

1. 肥胖細胞の変動

擦過片中の肥胖細胞数は誘発前、2 時間後において増加あるいは減少のいずれの傾向も認められなかった (図 1)。全好塩基性細胞数すなわち好塩基球を加えた総数に対する比をみると、低下したものは 17 例中 14 例であり、全体としても有意に低下する傾向にあった ($p < 0.05$) (図 2)。一方、鼻汁中肥胖細胞は 17 例中 3 例に陽性であったが誘発前後における傾向は一定ではなかった。

2. 好塩基球の変動

擦過片中の好塩基球数は誘発 2 時間後に増加したものは 17 例中 12 例、減少 2 例、不変 3 例であり、有意に増加の傾向があった ($p < 0.02$) (図 3)。また、全細胞数に対する比をみても 17 例中 14 例に増加が認められ、有

図 1 擦過片中肥胖細胞数の誘発前後の変化

図 2 擦過片中肥胖細胞の比率の誘発前後の変化

図 3 擦過片中好塩基球数の誘発前後の変化

意に増加の傾向があった ($p < 0.02$) (図 4)。

鼻汁中好塩基球は 1 時間後では 17 例中 7 例がすでに増加、5 例が不変、5 例が減少した。2 時間後では誘発前に比し、増加 11、不変 4、減少 0 で全体として 2 時間に増加する傾向にあった ($p < 0.02$) (図 5)。

これに対し、血中好塩基球は 17 例中 12 例が誘発後 1 時間で減少し、2 時間で再び増加し、3 例は 1 時間で増

表 1 17例のスギ花粉症における鼻誘発前後の血中、鼻粘膜表面擦過片中、鼻汁中の好塩基球、肥胖細胞、好酸球。

			Blood (/mm ³)		Scraping		Secretion		
			Ba.	Eo.	Mast(%)	Ba.(%)	Eo.	Mast	Ba. Eo.
No 1	pre		40	300	11(100)	0(0)	+	—	— +
	1h		25	262				—	2 + 2 +
	2h		62	287	117(75)	38(25)	3 +	—	+ 2 +
No 2	pre		37	150	0	0	+	—	— +
	1h		12	162				—	— —
	2h		37	250	0	0	±	—	— 2 +
No 3	pre		46	375	65(40)	95(60)	3 +	+	3 + 3 +
	1h		37	400				2 +	3 + 3 +
	2h		53	337	306(72)	120(28)	3 +	—	3 + 3 +
No 4	pre		84	737	1767(85)	324(15)	3 +	—	3 + 3 +
	1h		71	537				—	4 + 3 +
	2h		106	762	1249(60)	820(40)	3 +	—	4 + 3 +
No 5	pre		25	312	657(62)	399(38)	3 +	—	— ±
	1h		59	437				—	— +
	2h		40	337	299(48)	323(52)	3 +	—	3 + +
No 6	pre		34	150	0	0	+	—	— +
	1h		12	162				—	— 2 +
	2h		28	150	0	0	+	—	2 + 3 +
No 7	pre		56	250	3295(80)	820(20)	2 +	—	— —
	1h		50	300				—	+ 2 +
	2h		43	325	1146(53)	1024(47)	3 +	—	2 + 2 +
No 8	pre		46	625	3249(95)	178(5)	2 +	—	+ +
	1h		25	425				—	4 + 3 +
	2h		43	425	5677(88)	823(12)	3 +	—	4 + 3 +

加，2時間で減少した。全体の傾向は1時間で減少，2時間で再び増加の傾向を示した ($p < 0.05$) (図6)。この減少は鼻粘膜表層（上皮層・粘液層）に好塩基球が遊走したためと推定された。

3. 肥胖細胞と好塩基球および好酸球の関係

表2に示すように血中好塩基球数，好酸球数，擦過片中肥胖細胞，好塩基球，好酸球の増多の程度，鼻汁中好塩基球，好酸球の増多の程度はそれぞれの互いの組み合わせにおいて，ほとんどのものが相関した。これは患者の感作の強いものほど，これらの細胞が増多するものと推定され，中でも擦過片中肥胖細胞数および好塩基球数が10以下の症例 (No. 2, No. 6, No. 9) はいずれも血中好塩基球数が40個/mm³以下であり，好酸球数も250個/mm³以下であった。血中好塩基球の誘発後の減少数と擦過片中好塩基球の増加および鼻汁中好塩基球の増

加との間には一定の関係はなかった。

考 察

肥胖細胞と好塩基球は1879年 Ehrlich によって発見され，両細胞はともにトルイジンブルー，メチレンブルーなどの塩基性染色液でメタクロマジーを起こす顆粒をっており，組織にみられるものは mast cell，血中にみられるものは basophil と名付けられた。両細胞のその後の形態学的研究で，好塩基球は多くは小型で分葉核をもち，特異顆粒は比較的大で，顆粒内構造は一様であり，細胞内の含有は粗であるのに対し，肥胖細胞は大型で単核をもち，特異顆粒は比較的小で，顆粒内構造は多様であり，細胞内の含有は密であることが大きな違いであるとされている⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾。

さらに最近では cholinergic¹¹⁾ あるいは alpha-adre-

		Blood (/mm ³)		Mast(%)	Scraping		Secretion		
		Ba.	Eo.		Ba.(%)	Eo.	Mast	Ba.	Eo.
No 9	pre	21	75	3(100)	0(0)	3 +	—	—	3 +
	1h	15	62				—	2 +	+
	2h	25	87	9(88)	2(18)	+		3 +	±
No 10	pre	12	312	10(100)	0(0)	±	—	+	2 +
	1h	18	350				—	—	+
	2h	25	337	20(31)	44(69)	3 +	—	3 +	3 +
No 11	pre	21	200	3(50)	3(50)	±	—	—	2 +
	1h	50	212				—	—	—
	2h	25	100	0(0)	115(100)	±	—	—	+
No 12	pre	56	237	201(87)	28(13)	2 +	+	—	±
	1h	40	112				—	+	2 +
	2h	56	237	128(30)	360(70)	3 +	—	3 +	2 +
No 13	pre	37	400	13(72)	5(28)	2 +	—	4 +	2 +
	1h	18	537				—	+	3 +
	2h	40	612	15(20)	65(80)	2 +	—	4 +	2 +
No 14	pre	81	250	690(77)	201(23)	2 +	—	2 +	2 +
	1h	37	212				—	4 +	3 +
	2h	68	375	202(53)	175(47)	3 +	—	4 +	3 +
No 15	pre	25	100	415(78)	114(22)	2 +	2 +	3 +	2 +
	1h	9	50				—	—	±
	2h	21	75	112(38)	176(62)	3 +	+	4 +	2 +
No 16	pre	62	712	3(30)	7(70)	3 +	—	4 +	3 +
	1h	75	600				—	2 +	2 +
	2h	68	325	5(16)	27(84)	3 +	—	4 +	3 +
No 17	pre	56	225	71(73)	26(27)	2 +	—	+	3 +
	1h	50	225				—	—	3 +
	2h	31	275	87(40)	127(60)	3 +	—	2 +	3 +

nergic receptor²⁾ は肥肝細胞にはあるが好塩基球にはないという報告や、C3a は肥肝細胞からの mediator の遊離のトリガーになるが、好塩基球に対してはなりえない報告¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾ など機能的に異なることや、DSCG (Disodium cromoglicate) は好塩基球には無効であるとの報告、compound 48/80 の作用は好塩基球にはないなど¹⁶⁾¹⁷⁾ 生物学的特性の違いがあることがいわれている。しかしながら、この2つの細胞の共通するところはどちらも IgE 抗体に対する receptor をもち、抗原との反応で histamine, SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis), ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis), PAF (platelet activating factor) などの chemical mediator を遊離することである。

これらの2つの細胞は鼻アレルギーや気管支喘息において、気道粘膜表面に出現することが確認され、気道ア

レルギー発症に重要な役割をはたすことがいくつかの事実から示唆されている¹⁸⁾¹⁹⁾。すなわち鼻アレルギーにおいては鼻汁中、上皮層内のこれらの細胞の増多の程度と症状の強さ、鼻誘発反応の強さとは相関し、また擦過片中の好塩基性細胞から遊離する histamine 量が鼻アレルギー発症に十分な量である²⁾²⁰⁾。

今回、著者らはスギ花粉症を対象にスギ抗原による鼻誘発反応の前後の鼻粘膜表層に出現する肥肝細胞、好塩基球の数の変化を調べ、この2つの細胞の相互関係を見ようとした。鼻汁中、擦過片中の好塩基性細胞を注意して観察したところ、写真のような2つの細胞に分けることが可能であった。この中で鑑別上難しいものは好塩基球と小型の肥肝細胞であったが、核の分葉の有無、特異顆粒の含有が密か粗か、偏在性かどうかの点で鑑別が可能であった。ただし、細胞破壊のため、鑑別が困難なも

図4 擦過片中好塩基球の比率の誘発前後の変化

図5 鼻汁中好塩基球の出現程度誘発2時間後増加した ($p < 0.02$).

のは算定から除外した。この結果、血中、鼻汁、擦過片中の好塩基球、肥胖細胞、好酸球は各症例の間で互いに相関し、すべての細胞がともに増加、減少する傾向にあ

図6 血中好塩基球数の誘発前後の変動

った。これは感作程度の強いもの程、これらの細胞が増多するものと考えられた²¹⁾。また抗原による鼻誘発反応の前後で擦過片中肥胖細胞数にはあまり変化がなく、好塩基球が増多したが、肥胖細胞数には変化がなくとも抗原の暴露によって一部の特異顆粒から chemical mediator の遊離が起っていると考えられる。そして好塩基球はこれら反応した肥胖細胞の代償として鼻粘膜表層部に多数出現し、血中好塩基球数の減少は局所へ遊走した結果であろうと推定された。また、擦過片および鼻汁中好塩基球の増多のものはすでに抗原暴露をうけた可能性があり、ふたたび抗原の暴露によって好塩基球がさらに増多するという現象もみられた。

また、興味あるのは肥胖細胞の多く分布するのは擦過片の中の上皮層内であるのに対し、好塩基球は鼻汁中と擦過片中の粘液層と思われる部分に多く、上皮層内には少なかった。このことは他の報告と一致する²¹⁾²²⁾。好塩基球が粘液層にまで遊走するには上皮層を穿なければならず、上皮層内にも数多くの好塩基球が認められてもよいはずであるが、この理由は不明である。

この2つの細胞の寿命については好塩基球は数日と短かく¹⁹⁾、肥胖細胞は数十日と長く²³⁾、また、抗原との反応で遊離される histamine 量も好塩基球は平均 50% に対し、肥胖細胞は 30% と少なく²⁴⁾、肥胖細胞の再生能力の可能性を示唆している。従って脱顆粒を起こした肥胖細胞の再生にかかる時間に関しては今後の問題であるが、このように大量の抗原暴露後にむしろ暴露前よりも

表 2 肥胖細胞, 好塩基球および好酸球の関係

		Blood		Mast		Scraping		Secretion	
		Ba.	Eo.			Ba.	Eo.	Ba.	Eo.
Blood	Ba.		$r=0.33$ $p<0.02$	$r=0.47$ $p<0.01$	$r=0.36$ $p<0.05$	$r=0.44$ $p<0.01$		$r=0.31$ $p<0.05$	$r=0.33$ $p<0.1$
				$r=0.41$ $p<0.02$	$r=0.20$ $p<0.4$	$r=0.34$ $p<0.1$		$r=0.51$ $p<0.01$	$r=0.05$ $p<0.02$
	Eo.								
Scraping	Mas.				$r=0.71$ $p<0.01$	$r=0.65$ $p<0.01$		$r=0.37$ $p<0.05$	$r=0.33$ $p<0.05$
	Ba.					$r=0.54$ $p<0.01$		$r=0.37$ $p<0.05$	$r=0.42$ $p<0.01$
	Eo.							$r=0.64$ $p<0.01$	$r=0.42$ $p<0.02$
Secretion	Ba.								$r=0.54$ $p<0.01$

数多くの好塩基球が局所に動員されるということは肥胖細胞の代償的役割としての好塩基球の意義づけの可能性を強くするものである。また、好塩基球と肥胖細胞の分布が種によって異なり、例えば人や犬、兎そしてモルモットなどは血中に好塩基球は存在しても、ラットやマウスにはほとんどないことからこの2つの細胞は互いに代償し合うものとして考えられている²⁵⁾。今回における実験結果はこの概念を裏付けるに値するものと考えられた。

ま と め

1. スギ花粉症を対象にスギ花粉末を鼻内に散布して誘発し、その前後の血中、鼻汁中、下鼻甲介粘膜表面擦過片中の好塩基球、肥胖細胞の変動をみることにより、好塩基球と肥胖細胞の関係を検討した。
2. 血中好塩基球は誘発1時間で減少し、2時間で再び増加した。
3. 鼻汁中の好塩基球は誘発2時間後に増多した。肥胖細胞の出現はわずかであり、誘発前後における一定の傾向はなかった。
3. 擦過片中の肥胖細胞数は誘発前、後2時間では著変なかったが好塩基球は著明に増多した。以上のことから好塩基球は脱顆粒を起こした肥胖細胞の代償的役割として血中から局所に遊走するものと考えられた。
5. また、血中、鼻汁中、擦過片中の好塩基球、肥胖細胞、好酸球のそれぞれの増多は各症例間で互いに相関

性があり、感作程度の違いによってともに増減した。

参 考 文 献

- 1) Okuda M and Ohtsuka H: Basophilic cells in allergic nasal secretions. Arch Otorhinolaryngol 214: 283-289, 1977.
- 2) Ohtsuka H and Okuda M: Important factors for nasal manifestation of allergy. Arch Otorhinolaryngol 233: 227-235, 1981.
- 3) 大塚博邦 奥田 稔: 鼻アレルギー鼻汁中好塩基性顆粒細胞の研究(第3報) 血中好塩基球と鼻汁中好塩基性顆粒細胞との関係について 耳鼻臨床 71: 1085-1090, 1978.
- 4) 川堀真一 奥田 稔 大塚博邦: 鼻汁、鼻粘膜中の好塩基性顆粒細胞—電子顕微鏡的研究— 日耳鼻 81: 45-49, 1978.
- 5) 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.
- 6) 大塚博邦 奥田 稔 宇佐神 篤: 鼻アレルギーにおける好塩基性顆粒細胞の研究(第2報) 鼻アレルギー鼻汁中好塩基性顆粒細胞の定量法 耳鼻臨床 70: 1563-1566, 1977.
- 7) 奥田 稔: アレルギーの基礎と臨床 耳鼻 20: 297-344, 1974.
- 8) Okuda M, Kawabori S and Ohtsuka H: Elec-

- tron microscope study of basophilic cell in nasal secretion. *Arch Otorhinolaryngol* 221: 215-220, 1977.
- 9) Parmley RT, Spicer SS and Wright NJ: The ultrastructural identification of tissue basophils and mast cells in Hodgkin's disease. *Lab Invest* 32: 469-475, 1975.
 - 10) Parwaresch MR: The human blood basophil. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 13-21, 1976.
 - 11) Kliner M, Orange RP and Austen KF: Immunological release of histamine and slow-reacting substance of anaphylaxis from human lung. IV Enhancement by cholinergic and alpha-adrenergic stimulation. *J Exp Med* 136: 556-567, 1972.
 - 12) Lichtenstein LM, Gillespie E and Bourne HR: Studies on the biochemical mechanisms of IgE mediated histamine release. In Ishizaka K, Dayton DH editors. The biological role of the immunoglobulin E system. Bethesda, Md. 1972. The national institute of child health and human development.
 - 13) Grant JA, Dupree E and Golman AS et al: Complement-induced release of histamine in human leukocytes. *J Immunol* 114: 1101-1106, 1975.
 - 14) Hook WA, Siraganian RP and Wahn SM: Complement-induced histamine release from human basophils. I Generation of activity in human serum. *J Immunol* 114: 1185-1190, 1975.
 - 15) Vallota EH and Müller-Eberhard HJ: Formation of C3a and C5a anaphylatoxins in whole human serum after inhibition of the anaphylatoxin inactivator. *J Exp Med* 137: 1109-1123, 1973.
 - 16) Assem ESK and Mongar JL: Inhibition of allergic reactions in man and other species by Cromoglycate. *Inter Arch Allergy Appl Immunol* 38: 68-77, 1970.
 - 17) Lichtenstein LM, Foreman LC and Conroy MC et al: Differences between histamine release from rat mast cells and human basophils and mast cells. In Pepys J, Edwards AM editors. The mast cell. Pitman Medical. 1979. Proceeding of an international symposium.
 - 18) Kimura I, Moritani Y and Tanizaki Y: Basophils in bronchial asthma with reference to reagin-type allergy. *Clinical Allergy* 3: 195-202, 1973.
 - 19) Patterson P, Tomita Y and Oh SH et al: Respiratory mast cells and basophiloid cells. I Evidence that they are secreted into the bronchial lumen, morphology, degranulation and histamine release. *Clin exp Immunol* 16: 223-234, 1974.
 - 20) 大塚博邦: 鼻汁中好塩基性顆粒細胞の研究 耳鼻 26: 714-722, 1980.
 - 21) Hastie R, Chir B and Heroy JH III et al: Basophil leukocytes and mast cells in human nasal secretions and scraping studied by light microscopy. *Lab Investigation* 40: 554-561, 1979.
 - 22) Kawabori S, Unno T and Okuda M et al: Electron microscopic study of basophilic cells in allergic secretions and mucous membrane. *Rhinology* 19 (Suppl 1): 115-123, 1981.
 - 23) Bienenstock J, Befus AD and Pearce F et al: Mast cell heterogeneity: deviation and function with emphasis on the intestine. *J Allergy Clinical Immunology* 70: 407-412, 1982.
 - 24) Schulman ES and MacGlashan DW: Purified human basophils and mast cells, current concepts of mediator release. *Eur J Respir Dis* 64 (Suppl 128): 53-91, 1983.
 - 25) Levy DA: Histamine and serotonin. In Wessmann G editor: mediators of inflammation. Plenum Publishing Corp, New York, 1974.

本論文の要旨は昭和57年5月第83回日本耳鼻咽喉科学会総会で発表した。

(原稿受付 昭和 58. 8. 8日)

別刷請求先 〒113 東京都文京区千駄木 1-1-5

日本医科大学耳鼻咽喉科学教室 大塚博邦