鼻粘膜における好塩基性細胞の分布

東京医科歯科大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：渡辺 勲教授）

渡辺 建介, 新 関 泰 夫, 長谷川 誠

THE DISTRIBUTION OF BASOPHILOID CELLS IN NASAL MUCOSA

KENSUKE WATANABE, M. D., YUSUO NIIZEKI, M.D.

and MAKOTO HASEGAWA, M. D.

Department of Otolaryngology, Tokyo Medical and Dental University, School of Medicine, Tokyo

The distribution of basophiloid cells in nasal mucosa was examined both in the patients of nasal allergy and normal controls. Basophiloid cells were stained in alcian blue (P.H. 5.8) with 0.4 M MgCl₂.

- 1) The basophiloid cells in the nasal mucosa of allergic patients were far outnumbered those of normal controls.
- 2) The basophiloid cells in the epithelial layer were very few in normal controls.
- 3) In allergic nasal mucosa, the most numerous basophiloid cells were found in the upper lamina propria of the mucosa.
- 4) No difference of the number of basophiloid cells was found between ciliated area and non-ciliated area except deep lamina propria of the mucosa.

Key words: 鼻粘膜, 好塩基性細胞, 鼻アレルギー

A88—0123—32842

はじめに

鼻アレルギーの発症には好塩基性細胞が重要な役割を演じていると言われている。Ishizaka ら¹⁾によれば好塩基性細胞の表面で抗原と Ig-E 抗体が反応し、その結果脱顆粒が引き起こされ顆粒中の化学物質によりアレルギー発作が起きるとされている。この説に従えば抗原の粘膜内への侵入速度と好塩基性細胞の粘膜内における分布がアレルギー発症の重要な鍵となるはずである。従来好塩基性細胞の局在部位について報告はあるが成績が必ずしも一定せず、定量的に論じた報告は少ない。これは染色方法にも問題があったからとも考えられる。すなわち組織内好塩基性細胞を染色する方法は主にトルイジンブルー染色やチメレンブルー染色による顆粒の metachromasia によって行われてきた。この染色法は手軽であるがよほど条件がよくないと正確に細胞数を数えるこ

とが出来ない。今回われわれは好塩基性細胞顆粒内に大量に含まれているヘパリンを、特異的に青色に染色する Scott ら²⁾の方法を用いて検討を行った。この染色法を用いると細胞数を正確に数えるのがたいへん容易であった。

材料と方法

正常者（ボランティア）9例、鼻アレルギー患者9例の22～45歳の男女を研究対象とした。鼻アレルギー患者は室内塵アレルギーの患者を対象とした。1%プロカインによる局所麻酔をした上で下甲介粘膜を先端部を含めて奥に約1.5cm下甲介骨から剥離し、切除した。4μmのパラフィン切片を作製し、Scott ら²⁾の染色法に従って、0.4M MgCl₂ アルシアンブルー染色 (pH 5.8) を行った。この切片を46倍に引き伸したものをスクリーンに投

図 1

A: 無線毛部

B: 線毛部

a: 上皮層

b: 粘膜固有層浅層

c: 粘膜固有層深層

射しそれをトレースした(図1)。トレースした画像について 1) 上皮層, 2) 粘膜固有層浅層(上皮直下に存在する一部の鼻腺を含む), 3) 粘膜固有層深層(鼻腺および静脈叢の存在する部位)の面積を画像解析装置(デジタイザー)で測定した。この際鼻腺および静脈も含めた面積を測定した。画像解析は前方の無線毛部位と後方の線毛部位のそれぞれについて行った。次にそれぞれの部位における好塩基性細胞数を数えた。

結 果

今回われわれが行ったヘパリン染色法で切片を染色すると図2のように好塩基性細胞が青色に染まり容易にこの細胞を識別できた。

測定結果は表1に示した通りである。すなわち 1mm^2 (厚さは 4μ) 内に存在する好塩基性細胞数の平均値は鼻アレルギー群では鼻粘膜の部位にかかわらず粘膜固有層浅層に最も多く認められ 40コ/mm^2 であった。上皮内は線毛部が 35.3コ/mm^2 , 無線毛部では 25.1コ/mm^2 であった。深層においては線毛部が 16.1コ/mm^2 , 無線毛部が 37.2コ/mm^2 であった。一方正常者群ではどの層においてもアレルギー群よりも明らかに好塩基性細胞数は少なかったが, 粘膜固有層浅層の好塩基性細胞数が鼻アレルギーの場合と同様に最も多く, 線毛部では 18.5コ/mm^2 , 無線毛部で 15.4コ/mm^2 であった。上皮層内

における好塩基性細胞数は極めて少なく9例中5例は線毛部と無線毛部にわたって全く見出すことができなかった。粘膜固有層深層では線毛部は 11.1コ/mm^2 , 無線毛部 14.8コ/mm^2 であった。 1mm^2 (厚さは 4μ) 中の好塩基性細胞数の平均値の比較を図3に示した。図3における矢印は各層間の単位面積あたりの好塩基性細胞数の平均値で推計学的に有意の差 ($p < 0.01$) を認めたものである。すなわち鼻アレルギー群では, 粘膜固有層浅層(無線毛部)は上皮層(無線毛部)より, 上皮層(線毛部)は粘膜固有層深層(線毛部)より, 粘膜固有層浅層(線毛部)は粘膜固有層深層(線毛部)より, 粘膜固有層深層(無線毛部)は粘膜固有層深層(線毛部)よりそれぞれ有意に好塩基細胞数が多かった。正常者群では無線毛部, 線毛部とも粘膜固有層浅層および深層はそれぞれ上皮層よりそして無線毛部深層は線毛部深層より有意に多かった。

考 察

鼻粘膜における好塩基性顆粒を含んだ細胞には肥満細胞と好塩基球とがある³⁾⁴⁾。しかしこの二種類の細胞が持っている顆粒内物質の違いを認めることができないことから, この二種の細胞群の機能は類似していると考えられている⁵⁾。したがって今回われわれは特に肥満細胞と好塩基球とを区別せず好塩基性細胞として扱った。

表 1

		ALLERGY										NORMAL									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均値	1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均値
C I L I A T E D	上 皮 内	コ MM ²	61	20	4	19	4	3	32	8	7		0	2	2	1	0	0	0	0	
			0.75	0.35	0.30	0.49	1.15	0.39	0.41	0.35	0.48		0.04	0.53	0.64	0.66	0.91	0.62	0.68	0.69	
		コ/MM ²	81.3	57.1	13.3	38.8	3.8	7.7	78.0	22.9	14.6	35.3	0	3.8	3.1	1.5	0	0	0	0	0.9
	上 皮 下 (浅)	コ MM ²	162	107	64	111	44	27	81	31	90		3	39	36	19	13	11	18	20	14
			2.85	2.39	2.01	2.28	1.81	1.20	1.92	1.06	1.19		0.05	2.26	2.11	0.94	1.97	1.85	2.26	1.07	1.11
		コ/MM ²	56.8	44.8	31.8	48.7	24.3	22.5	42.2	29.2	75.6	41.8	60.0	17.3	17.1	20.1	6.6	5.9	8.0	18.7	12.6
N O N - C I L I A T E D	上 皮 下 (深)	コ MM ²	385	133	234	183	145	73	89	110	153		39	63	53	109	139	140	114	85	110
			6.83	6.74	12.79	10.73	13.38	5.94	7.36	7.75	8.78		2.99	5.67	5.13	12.21	14.90	11.80	12.67	8.06	7.67
		コ/MM ²	22.9	19.7	18.3	17.1	10.8	12.3	12.1	14.2	17.4	16.1	13.8	11.1	10.3	8.9	9.3	11.9	9.4	10.5	14.3
	上 皮 内	コ MM ²	11	6	12	22	5	2	16	2	5		0	3	1	0	0	0	0	0	1
			0.63	0.27	0.40	0.48	0.18	0.09	0.51	0.17	0.29		0.75	0.32	0.40	0.38	0.58	0.42	0.37	0.30	0.25
		コ/MM ²	17.5	22.2	30.0	45.8	27.8	22.2	31.4	11.7	17.2	25.1	0	9.4	2.5	0	0	0	0	4.0	1.8
	上 皮 下 (浅)	コ MM ²	86	73	70	64	30	9	96	6	24		3	21	29	5	3	37	19	9	8
			1.73	1.41	1.56	1.82	0.57	0.11	2.72	0.34	1.65		1.12	1.73	1.62	0.80	0.69	0.87	0.80	0.66	0.83
		コ/MM ²	49.7	51.8	44.9	35.2	52.6	81.8	35.3	17.6	14.5	42.6	2.7	17.9	17.9	6.3	4.3	42.5	23.8	13.6	9.6
	上 皮 下 (深)	コ MM ²	146	122	210	125	84	7	104	28	56		81	69	66	32	50	81	97	47	69
			5.03	3.91	7.58	10.13	2.79	0.11	4.87	0.51	0.87		11.32	6.03	6.82	2.55	2.49	4.56	4.85	3.17	3.52
		コ/MM ²	29.0	31.2	27.7	12.3	30.1	63.6	21.4	54.9	64.3	37.2	7.2	11.4	9.7	12.5	20.1	17.8	20.0	14.8	14.8

図 3

好塩基性細胞顆粒中には種々の化学物質が含まれている⁵⁾。第一に鼻アレルギー反応の主役を演じていると考えられているヒスタミン、第二に酸性ムコ多糖類の一つであるヘパリンである。ヘパリンはヒスタミンとは逆にレアギン型反応に対して抑制的に働くと考えられている⁶⁾。トリイジンブルー染色などで、metachromasiaを示すのもこの酸性ムコ多糖と考えられている。今回われわれが好塩基性細胞の同定に用いた染色法もヘパリン染

色法として開発されたものであり、鼻汁中の好塩基性細胞はハンゼル液の改良で同定しやすくなるという報告があるが⁶⁾、組織中の染色法としては metachromasia による同定法が従来広く行われしてきた。しかしこの方法は簡便であるが測定誤差が大きい難点があった。高橋⁹⁾によると 104例中 3例にしか好塩基性細胞を上皮層内に認めることが出来ないと報告されている。いかに metachromasia による検出法が難しいかを示しているものと

思う。第三に Platelet activating factor (PAF) をあげることが出来る⁷⁾。これは脱顆粒をした好塩基性細胞の周囲に血小板が集合することにより見いだされた物質である。PAF は血管の透過性を高めるが抗ヒスタミン剤でこの働きを阻止することはできず、平滑筋収縮作用もないのが特徴である。顆粒に含まれるその他の物質として Eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A) や Slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) 等もある。またヒト好塩基性細胞に限ってペロキシダーゼの存在も確められている。

さて Ishizaka 等¹⁾ が報告したように好塩基性細胞の細胞膜で抗原が IgE 抗体と結合して、顆粒内物質が放出されるとするなら抗原が好塩基性細胞のある部位まで侵入していかなければアレルギー反応はおこらない事になる。今回の我々の研究結果ではアレルギー患者においては全例上皮層内に好塩基性細胞を認めることが出来たが、最も細胞密度が濃い部位は上皮層よりむしろ粘膜固有層浅層であった。大塚等¹³⁾ も鼻アレルギーにおいて好塩基性細胞が増多するのは粘膜固有層浅層であると報告している。従って好塩基性細胞が最も生体に作用している部位は粘膜固有層浅層と考えられる。それでは抗原はこの部位まではたして侵入することが出来るのであろうか。鼻腔粘膜に付着した抗原が、粘膜固有層のかかなり深い部位にまで侵入すると主張する報告¹⁰⁾がある一方、抗原はほとんど粘膜内には侵入しないと主張する報告もある¹¹⁾¹²⁾。Patterson 等⁴⁾ はヒスタミンで誘発しても、ヒスタミンより1000倍の分子量を持つ抗原で誘発しても気管粘膜における発作発現時間が約5分と同じことから気管腔内細胞(好塩基性細胞)から放出された化学物質が粘膜内に侵入すると推論している。筆者等の考えとして抗原が粘膜内に侵入しないと主張する説の最大の弱点が一つあるように思われる。それは鼻アレルギー患者粘膜においては上皮の剥脱が非常に著しいという点を無視している事である¹⁴⁾。おそらく上皮が剥脱していない箇所においては分子量の大きい抗原は粘膜内に侵入することは難しいであろう。しかし上皮がなければ、その部位からは容易に抗原が粘膜内に侵入するであろう。従来粘膜上皮の剥脱部は機械的損傷として集計から除去されてきた⁹⁾。もちろん人工的に破壊された部位もあるだろうが、アレルギーの特徴としての上皮剥脱部位も観察の対象から除外してきた可能性が大きい。上皮剥脱部位があることを考慮すれば、Patterson 等や奥田等の主張する腔内に出た好塩基性細胞から放出される化学物質だけがアレ

ルギー発現の引き金となるという説に固執しなくもよいであろう。むしろ好塩基性細胞が最も密度の濃い上皮下浅層がアレルギー発現に重要な役割を持っていると考えられる。

抗原の大部分が付着する無線毛部位と後方の線毛部位では好塩基性細胞の分布に差が出ると予想したが今回の結果では粘膜固有層深層においてのみ、無線毛部の方が線毛部に比して細胞密度が高いという結果であった。しかしこの層には腺や静脈が多数含まれておりこれらを除いた間質部の面積にはかなりのばらつきが考えられ、今回の結果を即座に意味付けするのは危険と思われる。なお、局所麻酔直後に粘膜を切除しているの、麻酔による影響はほとんどないものと考えた。

ま と め

鼻アレルギー患者および正常者鼻粘膜における好塩基性細胞の分布を検索した。好塩基性細胞を 0.4M MgCl₂, アルシアンブルー (pH 5.8) 染色法で染色した。1) 鼻粘膜の好塩基性細胞数は正常人に比べ鼻アレルギー群に多い。2) 正常人において好塩基性細胞は上皮内には極めて少なく、粘膜固有層浅層、深層と有意の差を認めた。3) 鼻アレルギー患者においては好塩基性細胞は粘膜固有層浅層に最も多く認められた。4) 粘膜固有層深層においては、正常群、鼻アレルギー群とも無線毛部の好塩基性細胞数の方が線毛部に比して有意に多かった。

参 考 文 献

- 1) Ishizaka T, Ishizaka K, Orange R, et al: The capacity of human immunoglobulin E to mediate the release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) from monkey lung. *J Immunol* 104: 335-343, 1970.
- 2) Scott JE and Dorling J: Differential staining of acid glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) by alcian blue in salt solutions. *Histochemie* 5: 221-233, 1965.
- 3) 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 —電子顕微鏡の研究— *日耳鼻* 81: 45-49, 1978.
- 4) Patterson R, Tomita Y, Oh SH, et al: Respiratory mast cells and basophiloid cells. *Clin Exp Immunol* 16: 223-234, 1974.
- 5) Dvorak HF and Dvorak AM: Basophilic leuko-

図2 鼻アレルギー患者線毛部

青色に染まっている細胞が好塩基性細胞.

a:上 皮 層

b:粘膜固有層浅層

c:粘膜固有層深層

- cytes: Structure, Function and role in disease. Clinics in Haematology 4: 651-683, 1975.
- 6) Saito Y: Improved staining method of the mast cell, etc. in nasal secretion. Z Erkrank Atm-Org 153:261-263, 1979.
- 7) Benveniste J: Platelet-activating factor, a new mediator of anaphylaxis and immune complex deposition from rabbit and human basophils. Nature 249: 581-582, 1974.
- 8) 木村郁郎: 喘息と好塩基球 最新医学 28: 1521-1529, 1973.
- 9) 高橋柳子: 鼻アレルギーの診断の立場からみた下甲介粘膜の組織学的研究 日耳鼻 71: 143-155, 1968.
- 10) Rappaport BZ: Antigen-antibody reactions in allergic human Tissues. III) Immunofluorescent study of allergic nasal mucosa. J Immunol 93: 792-797, 1964.
- 11) Richardson JB, Hogg JC, Bonchard T, et al: Localization of antigen in experimental bronchoconstriction in guinea pigs. J Allergy Clin immunol 52: 172-181, 1973.
- 12) Okuda M and Otsuka H: Basophilic cells in allergic nasal secretions. Arch Oto Rhinol Laryngol 214: 283-289, 1977.
- 13) 大塚博邦 奥田 稔: 鼻アレルギーにおける好塩基性顆粒細胞の役割 臨床病理 119: 1194-1200, 1981.
- 14) Watanabe K and Watanabe I: Changes of nasal epithelial cells and mucus layer after challenge of allergen. Ann Otol Rhinol Laryngol 90: 204-209, 1981.
-
- (原稿受付 昭和 59. 7. 19日)
- 別刷請求先 〒113 東京都文京区湯島 1-5-45
東京医科歯科大学医学部耳鼻咽喉科学教室
渡辺 建介