

# Immune Complex に伴う表皮の増殖性変化

川崎医科大学 皮膚科  
 簾 持 淳

(昭和57年2月22日受付)

## Autoradiographic Study on Epidermal Proliferation Following the Immune Complex Induced Reaction

Atsushi Hatamochi

Department of Dermatology, Kawasaki Medical School,  
 Kurashiki 701-01, Japan

(Accepted on February 22, 1982)

**Horseradish peroxidase (HRP)** で感作したモルモットの腹部皮膚に **HRP 100  $\mu$ g**, **10  $\mu$ g** をそれぞれ皮内注射し, 又, 同様に **bovine serum albumin (BSA)** で感作したものに **BSA 100  $\mu$ g** を皮内注射し, **Arthus** 反応を惹起させた. そして1, 4, 8, 24, 48, 72時間後に生検し,  $^3\text{H}$ -thymidine を使ったオートラジオグラフィーで表皮基底細胞の標識率を算出し, **Arthus** 反応が表皮の DNA 合成能に及ぼす経時的な影響を未感作のモルモットに **HRP 100  $\mu$ g**, **BSA 100  $\mu$ g** を皮内注射したものと比較検討した.

さらにモルモットの健常腹部皮膚に **HRP** と **anti HRP IgG** により調製した不溶性 **immune complex** を皮内注射し, 抗原のみを皮内注射したものと比較検討した. これらの結果は以下のごとくであった.

1. **HRP 100  $\mu$ g** で惹起した **Arthus** 反応では, 1, 4, 8時間後に標識率は減少し, 未感作のモルモットに **HRP 100  $\mu$ g** を皮内注射した群に比べ著明に低値であった.
2. **HRP 10  $\mu$ g** で惹起した **Arthus** 反応では, 1, 4, 8時間後において減少傾向はなく, **HRP 100  $\mu$ g** で惹起した群に比べ著明に高値であった.
3. **BSA 100  $\mu$ g** で惹起した **Arthus** 反応では, 1, 4, 8時間後において減少傾向はなく, 未感作のモルモットに **BSA 100  $\mu$ g** を皮内注射した群に対し, 1時間後は低値であったが, 4, 8時間後では差はなかった.
4. 24時間後, すべての群で標識率は高値を呈したが, 48時間後も, 対照群が著明に減少したのに対し, **Arthus** 反応群では高値を保持した.
5. 健常皮膚への **immune complex** の皮内注射4時間後の標識率は抗原だけを皮内注射した群より低値であった.

以上の結果より **Arthus** 反応は24時間目以後, 表皮の DNA 合成能を高める一方, 強い反応を惹起した時は8時間目までそれを抑制することが示唆された.

Arthus reactions were provoked by injections of 100  $\mu$ g of horseradish peroxidase (HRP), 10  $\mu$ g of HRP, and 100  $\mu$ g of bovine serum albumin (BSA) into the skin of the sensitized guinea pigs. Skin samples were taken, 1, 4, 8, 24, 48 and 72 hours after the provocation.

Autoradiographic methods were applied and labeling indices of epidermal basal cells were calculated to examine DNA-synthesis activity of the epidermis following the reaction. The results were compared with those obtained by the control injections of 100  $\mu$ g of HRP and 100  $\mu$ g of BSA into the skin of non-sensitized guinea pigs.

In addition, insoluble immune complexes were prepared in vitro with HRP and anti-HRP guinea pig IgG, and they were injected into the skin of a normal guinea pig. Four hours later, the biopsy specimens were obtained from the injection sites and examined with the same methods. Injections of HRP alone were performed as controls.

The following results were obtained.

1. On 1, 4 and 8 hours after the provocation of Arthus reaction with 100  $\mu$ g of HRP, the labeling indices of the basal cells declined and were significantly lower than those obtained by the non-sensitized guinea pigs with injections of 100  $\mu$ g of HRP.

2. On 1, 4 and 8 hours after the provocation of Arthus reaction with 10  $\mu$ g of HRP, the labeling indices of the basal cells did not decline and were significantly higher than those obtained by the Arthus reactions with 100  $\mu$ g of HRP.

3. On 1, 4 and 8 hours after the induction of Arthus reactions with 100  $\mu$ g of BSA, the labeling indices of the basal cells did not decline. Only at the first hour after the induction, the labeling index was lower than that obtained by the non-sensitized guinea pigs with injections of 100  $\mu$ g of BSA.

4. On 24 hours after the initiation of experiments, the labeling indices indicated high value in each group. There was a marked decrease of labeling indices at 48 hours after the injections of the antigen into the skin of non-sensitized guinea pigs, but high values were prolonged during 48 hours after the induction of the reactions.

5. The epidermal labeling index of the skin of a normal guinea pig with injection of immune complexes was lower than those obtained by the injections of the antigen alone.

Based on the findings, it may well be anticipated that on the skin of the Arthus reaction DNA-synthesis activity of the epidermis begins to increase at 24 hours after the provocation. However in the skin of the enhanced Arthus reaction, the DNA-synthesis activity will become depressed from 1 hour till 8 hours after the induction.

## はじめに

Immune complex(IC)は補体の活性化により、アナフィラトキシンの放出や白血球遊走因子を産生し、血管透過性の亢進、好中球の浸潤に伴う IC の貪食、消化、ライソゾーム酵素の

放出をきたし、さらにキニン系の活性化などにより、一連の炎症反応を惹起する。ICに伴うこのような組織障害の機構は様々な形の組織や細胞の破壊性変化としてこれまでに諸家により観察されてきた<sup>1)~3)</sup>。一方、ICに伴う場の変化として、修復機構も含めた増殖性変化につい

てはまだほとんど知られていない状態である。

IC の関与が示唆される皮膚疾患<sup>4)</sup>としてあげられる lupus erythematoses, psoriasis vulgaris, lichen planus など様々な表皮の増殖性変化を伴うことは興味深い。今回、著者はモルモットの腹部皮膚に Arthus 反応を惹起し、局所で形成された IC が表皮の DNA 合成能に及ぼす影響をオートラジオグラフィーを用いて経時的に観察し、さらに直接 IC を皮内注射することによる影響も同様の方法で観察し検討したので、報告したい。

### 材 料 ・ 方 法

すべて体重 400 g 前後の Hartley 系雄モルモットを使用した。

#### 1. Arthus 反応における表皮の DNA 合成能に及ぼす影響

1) Horseradish peroxidase (Sigma 社, Type VI, HRP) 1mg を不完全 Freund アジュバントと共に足底、頸部に皮内及び皮下注射し、感作を行なった。3週間後、感作が成立したモルモットに皮下 booster 注射を行ない、その1週間後に、抗体価を調べるために約 2ml を心臓より採血し、得た血清で double diffusion agar gel 法を行なった。血清と沈澱を生じる抗原の最大希釈倍数が 1mg/ml に溶かしたものの 2<sup>5</sup>~2<sup>6</sup> 倍のものであることを確認しえたモルモット 4 匹を使用した。あらかじめ刺激をさけるために注意深く毛を刈った腹部皮膚に HRP 100 $\mu$ g を 0.1ml PBS (0.01 M phosphate buffered saline pH 7.2) にてそれぞれの個体に 6 箇所ずつ 2 列に合計 12 箇所皮内注射し、Arthus 反応を惹起させた。そしてこれらの箇所を順に 2 箇所ずつ、1, 4, 8, 24, 48, 72 時間後に生検を行なった。

2) 同様の方法で感作し、抗体価を調べたモルモット 2 匹に反応を弱める目的で HRP を 1/10 量の 10 $\mu$ g で同様の箇所に皮内注射し、Arthus 反応を惹起させ、同様の方法で生検を行なった。また抗原に bovine serum albumin (Sigma 社, BSA) を用いて同様の方法で感作し、抗体価を調べたモルモット 4 匹に 100 $\mu$ g

で同様の箇所に皮内注射にて Arthus 反応を惹起させ、これも同様の方法で生検を行なった。

3) 皮内注射そのものによる表皮への影響を調べる目的で感作していないモルモット 3 匹の腹部皮膚で同様の箇所に PBS 0.1ml を皮内注射し、同様の方法で各時間ごとに生検を行なった。又、上記の Arthus 反応群の対照として、感作していないモルモット 4 匹の腹部皮膚に HRP 100 $\mu$ g, さらに 4 匹に BSA 100 $\mu$ g を同様の箇所に皮内注射し、それぞれ同様の方法で各時間ごとに生検を行なった。

4) オートラジオグラフィーによる検索: それぞれ生検の1時間前に [6-<sup>3</sup>H]-thymidine (New England Nuclear, 16.2Ci/mmol) 10 $\mu$  Ci を 0.1ml PBS にて皮内注射で投与しておいた<sup>5)</sup>。採取した組織は 10% ホルマリン液で固定後、パラフィン包埋を行ない、皮内注射の中心部を含むように厚さ 6 $\mu$  の組織切片を作製し、ディッピング法 (dipping method) によるオートラジオグラフィーを行なった<sup>6)</sup>。乳剤はサクラ NR-M2 (小西六) を使用し、ディッピングは 42°C で行なった。露光時間を 10 日間で、コニドール X (小西六)、コニフィックス (小西六) にて現像、定着後、hematoxylin-eosin 染色を行なった。光顕下に 10 個以上の銀粒子を認める細胞を標識細胞とし、皮内注射の中心部より表皮基底細胞 500 個中の標識細胞の百分率で標識率 (labeling index, LI) をそれぞれについて算出した。

5) モルモットの健常腹部皮膚の標識率: 5 匹のモルモットより腹部皮膚を 6 箇所ずつ合計 30 箇所を選び、[6-<sup>3</sup>H]-thymidine 10 $\mu$  Ci を 0.1ml PBS にて皮内注射した。1時間後、生検を行ない、同様の方法でオートラジオグラフィーを行ない、LI を算出した。

#### 2. 不溶性 IC の皮内注射における表皮の DNA 合成能に及ぼす影響

HRP を用いて 1) と同様の方法でモルモットを感作し、抗体価の上昇した抗血清を得た。抗血清は 56°C, 30 分非働化後、1/3 飽和硫酸塩折後、DEAE セルローズカラムで IgG 分画を得た。これを濃縮した後、Heidelberger 法<sup>7)</sup>

で抗体価を測定した。不溶性 IC は抗原と抗体を最適比で 37°C, 1 時間, 次いで 4°C, 24 時間反応させ, 沈澱物を PBS で洗浄して得た。これを 5 mg/ml の濃度になるよう PBS に浮遊させ, 感作していない別のモルモットの腹部皮膚に 0.1 ml ずつ 5 個所に皮内注射した。同時に対照として HRP 70 μg (この量は不溶性 IC の皮内注射量中の抗原量にほぼ等しい。) 皮内注射後 3 時間で, [6-<sup>3</sup>H]-thymidine を 1 μCi/g の割合で腹腔内に投与し, 4 時間後にすべて生検を行なった。また同時にこの場合の健常腹部皮膚の LI をみるために, 4 個所, 生検しておいた。露光時間を 4 週間にして, 前述と同様のオートラジオグラフィを施行し, それぞれの LI を算出し, 比較した。

各群別, 経過時間別に LI (%) の MEAN, SE を求め, 結果を MEAN ± SE で表示した。又, 各時間間隔における群ごとの中央値の有意差検定を行なった。検定方法としてはノンパラメトリック法の順位和検定 (rank test)<sup>8)</sup> を用い,  $p < 0.05$  で有意差とした。

結 果

1. Arthus 反応における表皮の DNA 合成能に及ぼす影響

LI (%) の MEAN ± SE と標本数を **Table 1** に示す。

a) モルモットの健常腹部皮膚の表皮の LI は  $4.9 \pm 0.3$  ( $n=30$ ) % であった。個体, 部位による有意差はなかった。

b) 未感作モルモットの腹部皮膚に PBS 0.1 ml を皮内注射した場合の LI は 1 時間目より  $10.0 \pm 1.2$  % と増加, 4 時間目  $7.2 \pm 1.0$  %, 8 時間目  $4.9 \pm 0.5$  % で 24 時間目になると  $25.7 \pm 3.4$  % と上昇し, 最高値に達した。48 時間目は  $2.1 \pm 0.3$  % と著明に低下し, 72 時間目は  $2.8 \pm 0.4$  % であった。

未感作モルモットに HRP 100 μg を皮内注射した場合, LI は 1 時間目  $10.1 \pm 0.9$  % と増加し, 4 時間目  $7.7 \pm 0.6$  %, 8 時間目  $8.4 \pm 0.9$  % で, PBS 皮内注射群との間に 1, 4 時間目は有意な差はなかったが, 8 時間目は有意に高値

**Table 1.** Labeling indices of epidermal basal cells following Arthus reactions

	1 hr	4 hr	8 hr	24 hr	48 hr	72 hr
Arthus reaction group*						
HRP 100 μg	$3.4 \pm 0.6$ ( $n=7$ )	$2.4 \pm 0.6$ ( $n=7$ )	$2.6 \pm 0.6$ ( $n=7$ )	$33.8 \pm 3.4$ ( $n=7$ )	$17.8 \pm 3.9$ ( $n=7$ )	$7.0 \pm 1.3$ ( $n=7$ )
HRP 10 μg	$17.0 \pm 3.0$ ( $n=4$ )	$9.4 \pm 2.2$ ( $n=4$ )	$16.1 \pm 3.7$ ( $n=4$ )	$16.1 \pm 2.4$ ( $n=4$ )	$10.3 \pm 3.1$ ( $n=4$ )	$5.2 \pm 1.8$ ( $n=4$ )
BSA 100 μg	$6.8 \pm 0.6$ ( $n=7$ )	$6.3 \pm 0.9$ ( $n=5$ )	$8.4 \pm 0.7$ ( $n=5$ )	$35.1 \pm 4.0$ ( $n=5$ )	$18.5 \pm 5.2$ ( $n=5$ )	$5.3 \pm 1.3$ ( $n=6$ )
Control group**						
PBS	$10.0 \pm 1.2$ ( $n=5$ )	$7.2 \pm 1.0$ ( $n=5$ )	$4.9 \pm 0.5$ ( $n=6$ )	$25.7 \pm 3.4$ ( $n=6$ )	$2.1 \pm 0.3$ ( $n=5$ )	$2.8 \pm 0.4$ ( $n=5$ )
HRP 100 μg	$10.1 \pm 0.9$ ( $n=7$ )	$7.7 \pm 0.6$ ( $n=7$ )	$8.4 \pm 0.9$ ( $n=6$ )	$39.4 \pm 1.8$ ( $n=7$ )	$2.5 \pm 0.3$ ( $n=7$ )	$7.7 \pm 1.5$ ( $n=6$ )
BSA 100 μg	$9.9 \pm 0.5$ ( $n=6$ )	$7.0 \pm 0.2$ ( $n=5$ )	$8.6 \pm 0.9$ ( $n=6$ )	$26.2 \pm 3.1$ ( $n=6$ )	$10.1 \pm 0.8$ ( $n=4$ )	$12.9 \pm 1.2$ ( $n=5$ )
Labeling index of the normal skin***	$4.9 \pm 0.3$ ( $n=30$ )					

\* Arthus reactions were provoked by intra-dermal injections of HRP 100 μg in 0.1 ml of PBS, HRP 10 μg in 0.1 ml of PBS and BSA 100 μg in 0.1 ml of PBS into the abdomen of sensitized guinea pigs.

\*\* Intra-dermal injection of 0.1 ml of PBS, HRP 100 μg in 0.1 ml of PBS and BSA 100 μg in 0.1 ml of PBS to the non-sensitized guinea pigs.

\*\*\* The specimens were obtained from not only non-sensitized guinea pigs but also sensitized guinea pigs.

であった。24時間目は $39.4 \pm 1.8\%$ と上昇し最高値に達するが、PBS皮内注射群より有意に高値であった。48時間目は $2.5 \pm 0.3\%$ で著明に低下し、72時間目は $7.7 \pm 1.5\%$ でまた上昇した。BSA  $100 \mu\text{g}$ の皮内注射後のLIは1時間目は $9.9 \pm 0.5\%$ とやはり増加し、4時間目 $7.0 \pm 0.2\%$ 、8時間目 $8.6 \pm 0.9\%$ で、PBS皮内注射群との間に1、4時間目は有意な差はなかったが、8時間目は有意に高値であった。すべてHRP  $100 \mu\text{g}$ 皮内注射群と差はなかった。24時間目は $26.2 \pm 3.1\%$ とやはり上昇し、最高値となり、PBS皮内注射群との間に差はないが、HRP  $100 \mu\text{g}$ 皮内注射群に対しては有意に低値であった。48時間目は $10.1 \pm 0.8\%$ で低下するが、PBS皮内注射群、HRP  $100 \mu\text{g}$ 皮内注射群の両群より有意に高値であった。72時間目は $12.9 \pm 1.2\%$ であった (Fig. 1)。

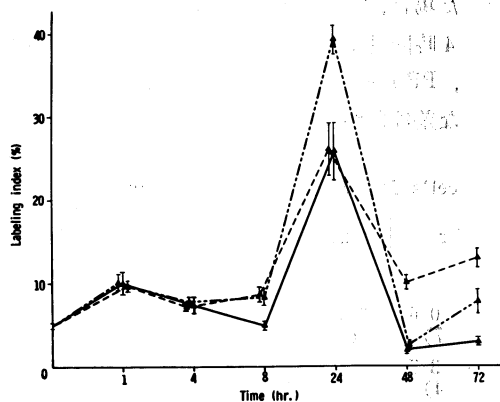


Fig. 1. Time course of labeling indices in the epidermal basal cells of non-sensitized guinea pigs which were injected of 0.1 ml of PBS (—▲—), HRP  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (---▲---), and BSA  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (···▲···).

c) HRP  $100 \mu\text{g}$ 皮内注射にて惹起した Arthus 反応における表皮のLIは1時間目 $3.4 \pm 0.6\%$ 、4時間目 $2.4 \pm 0.6\%$ 、8時間目 $2.6 \pm 0.6\%$ で、これらは未感作のものに HRP  $100 \mu\text{g}$ を皮内注射した群と比べると、いずれも著明に低値であった ( $p < 0.01$ )。その後24時間目になると、 $33.8 \pm 3.4\%$ と急激に上昇し、同様に比べたが、有意な差はなかった。48時間目は

$17.8 \pm 3.9\%$ で、未感作のものに HRP  $100 \mu\text{g}$ 皮内注射したものより有意に高値であった。72時間目は $7.0 \pm 1.3\%$ であった (Fig. 2)。Fig. 3は24時間目のオートラジオグラムである。

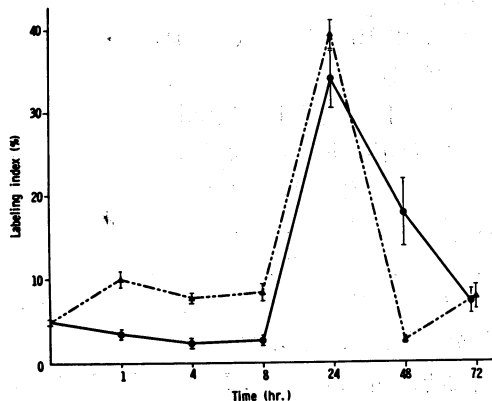


Fig. 2. Time course of epidermal labeling indices following Arthus reactions provoked by HRP  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (—●—) and labeling indices in the epidermal basal cells of non-sensitized guinea pig which was injected of HRP  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (---▲---).

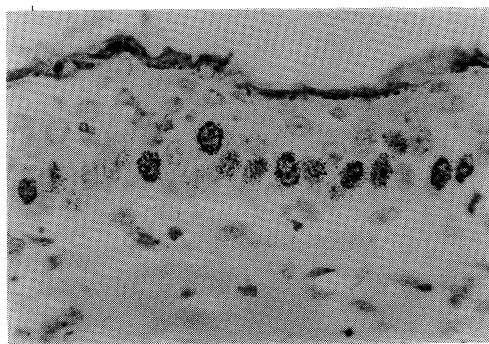


Fig. 3. Autoradiographic preparation of 24 hours after Arthus reactions induced by HRP, post-stained with hematoxylin-eosin, after 10 days—exposure, demonstrating silver grains on epidermal basal cells. ( $\times 600$ )

d) HRP  $10 \mu\text{g}$ 皮内注射にて惹起した Arthus 反応におけるLIは1時間目 $17.0 \pm 3.0\%$ 、4時間目 $9.4 \pm 2.2\%$ 、8時間目 $16.1 \pm 3.7\%$ であった。これらを HRP  $100 \mu\text{g}$ による Arthus 反応群と比較すると、いずれも著明に高

値であった。24時間目  $16.1 \pm 2.4\%$ 、48時間目  $10.3 \pm 3.1\%$ 、72時間目  $5.2 \pm 1.3\%$ であった (Fig. 4)。BSA  $100 \mu\text{g}$  皮内注射により惹起された Arthus 反応における表皮の LI は、1時間目  $6.8 \pm 0.6\%$ 、4時間目  $6.3 \pm 0.9\%$ 、8時間目  $8.4 \pm 0.7\%$ 、24時間目  $35.1 \pm 4.0\%$ 、48時間目  $18.5 \pm 5.2\%$ 、72時間目  $5.3 \pm 1.3\%$ であった。未感作のものに BSA  $100 \mu\text{g}$  皮内注射した群に対し、1時間目と72時間目で有意に低値であったが、他に差は認められなかった。

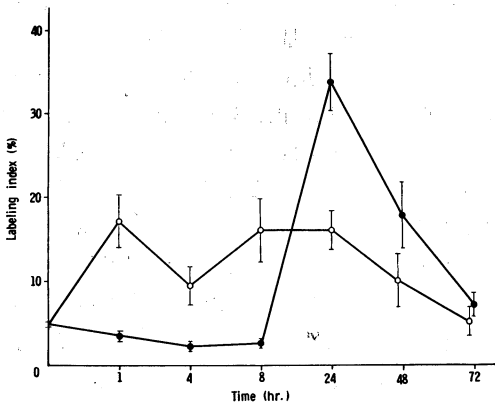


Fig. 4. Time course of epidermal labeling indices following Arthus reactions provoked by HRP  $10 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (—○—) and by HRP  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (—●—).

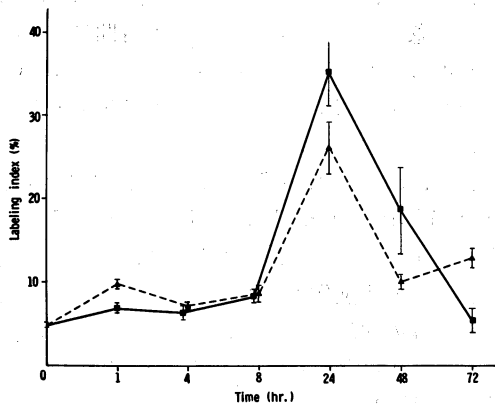


Fig. 5. Time course of epidermal labeling indices following Arthus reactions provoked by BSA  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (—■—) and labeling indices in the epidermal basal cells of non-sensitized guinea pig which was injected of BSA  $100 \mu\text{g}$  in 0.1 ml of PBS (---▲---).

た (Fig. 5)。1, 4, 8時間目を HRP による Arthus 反応群と比較すると、HRP  $100 \mu\text{g}$  による群に対しては、すべて有意に高値であった。HRP  $10 \mu\text{g}$  による群に対しては、1時間目のみ有意に低かったが、4, 8時間目は有意差がなかった。

e) Arthus 反応に伴う光顕での組織学的変化: 1時間目では真皮上層に浮腫が著明となり、比較的小型の単核細胞の中等度の浸潤を認めた。多核白血球は血管周囲にわずかに存在する程度であった。4時間目になると真皮上層には浮腫と著明な出血を認め、単核球はやや減少し、多核白血球の浸潤が特に真皮の上層から中層にかけて著明となった。8時間目では浮腫は軽度となるが多核白血球の浸潤は最も高度となり、核塵を認めた。24時間目も多核白血球は多数存在するが、大型の単核球が主に表皮直下から真皮上層に目立つようになった。48時間目では大型の単核球はさらに増加し、多核白血球は減少した。72時間目も48時間目とはほぼ同様の所見であったが、単核球はさらに増加した。なお、全経過を通して浸潤細胞が表皮内に存在する所見はなかった。又、24時間目以後、特に48, 72時間目に単核球の  $^3\text{H}$ -thymidine 標識細胞が認められたが、これは対照群でも存在した。

## 2. 不溶性ICの皮内注射における表皮の DNA 合成能に及ぼす影響

LI (%) の MEAN  $\pm$  SE と標本数を Table 2 に示す。

HRP-anti HRP IgG の皮内注射4時間後の LI は  $4.0 \pm 0.1\%$  であった。HRP  $70 \mu\text{g}$  の皮内注射4時間後の LI は  $6.8 \pm 0.6\%$  であった。

Table 2. Effect of the injected immune complexes into the abdominal skin of a guinea pig on labeling index of the epidermal basal cells

intra-dermal injection of IC	$4.0 \pm 0.1$ (n=5)
intra-dermal injection of HRP $70 \mu\text{g}$	$6.8 \pm 0.6$ (n=4)
normal skin	$4.7 \pm 0.1$ (n=4)

健常腹部皮膚の LI は  $4.7 \pm 0.1\%$  であった。各群間に有意差を認めた。

### 考 按

IC に伴う表皮の変化, 特に DNA 合成能への影響をみた研究は, 1967 年の五十嵐<sup>9)</sup> による Arthus 反応惹起モルモット表皮における報告がみられるにすぎない。しかし, その報告もむしろ組織学的変化との関係や DNA 合成細胞の分布などに注目し, Arthus 反応の抗原との関連性や反応の強さによる影響などについては触れていない。そこで, 著者は, Arthus 反応を濃度の異なる抗原で惹起させ, 又, 抗原の種類を変えて惹起し, 表皮の DNA 合成能への影響を 72 時間目まで観察した。

オートラジオグラフィーは, 局所標識法(local labeling method) を主に用いたが, これは 1963 年に加来らが最初に行なった方法で, その後も諸家<sup>9), 10)</sup> により使われ, その中で五十嵐は, 全身標識法, 試験管内標識法との間に標識細胞の分布に相異なく, LI は多少の相異はあるが, 平行することを示している。今回, 著者も手技上の点を考慮して, この方法を使用した。

表皮の分裂能や DNA 合成能は, 生理的な日内変動が存在することをマウスやラットで示されているが,<sup>11)~14)</sup> その幅は小さいものであり, しかも今回の実験では, 比較するものをすべて同じ時間帯で行なったことから, これらのことは除外した。

Arthus 反応惹起後, 認められた変化が, 反応自体による変化であるかどうかをみるために, 皮内注射の操作だけによる影響, Arthus 反応を惹起するに要した抗原を皮内注射することによる影響をあらかじめ調べておき, 特に, 後者を Arthus 反応群の対照として用いた。PBS の皮内注射で LI が大きく変動し, 皮内注射という操作だけでも表皮に対して強い影響を及ぼすことが示された。未感作モルモットへの抗原の皮内注射群がこれとほぼ同じ傾向を示し, しかもほぼ同程度の LI であり, 抗原その

ものによる影響は明らかにされなかった。

Arthus 反応群における経時的变化を, 8 時間目までの成績, 24 時間目の成績, 48, 72 時間目の成績に分けて検討する。

まず, 8 時間目までの経過では, HRP 100  $\mu\text{g}$  で惹起された群は, この期間中, LI は減少する傾向を示し, 著しい低値を示したが, 他の群では減少傾向はなく, BSA 100  $\mu\text{g}$  で惹起された群, HRP 10  $\mu\text{g}$  で惹起された群の順で LI は高かった。HRP による Arthus 反応群の場合, ほぼ同じ抗体価のモルモットを使用し, 皮内注射した抗原の量を 100  $\mu\text{g}$  から 10  $\mu\text{g}$  としたので, Arthus 反応によって引き起こされる炎症の強さは, 肉眼的, 組織学的に 4 時間目を比較しても, 100  $\mu\text{g}$  によるものでは著明な出血をきたしているのに対し, 10  $\mu\text{g}$  によるものではほとんど認められず, 100  $\mu\text{g}$  によるものの方がより強い反応といえる。一方, BSA による IC では, 抗原 3 分子と抗体 2 分子からなるもので強い補体活性を示すと言われている<sup>15)</sup>。Arthus 反応は, アレルギー反応 III 型における抗体過剰での反応であり, 肉眼的, 組織学的には差は認められないが, HRP 100  $\mu\text{g}$  による Arthus 反応の方が BSA 100  $\mu\text{g}$  によるものに比べ, より強い生物学的活性を示す反応と考える。従って, この成績から著者は, 強い Arthus 反応を惹起した場合に, 惹起後 8 時間目までに表皮の LI が減少する傾向を示し, これは G<sub>1</sub> 期→S 期を抑制する作用が働いた結果と考えたい。

次に, 24 時間目の成績であるが, ここでは, HRP 10  $\mu\text{g}$  による Arthus 反応以外は LI が急激に上昇している。しかし, これは PBS 皮内注射群や未感作モルモットに抗原を注射した群と同様の成績である。これと同様の成績は, モルモットの背部皮膚での Arthus 反応における表皮,<sup>9)</sup> 角層剝離による表皮<sup>9)</sup> で, それぞれ示され, 又, 未感作マウスの腹部皮膚の DNCB 塗布による表皮<sup>16)</sup> にて報告されている。著者は, この 24 時間目に認められる LI の増加については, その方法は様々なものであっても, 皮膚に一時的に, ある範囲内の強さの刺激を加

えた場合、その表皮の LI は、24 時間目頃を中心にも増加すると考える。そして、これはこの時期に表皮細胞の G<sub>1</sub> 期→S 期を促進させる作用が最も高まるのではないかと想像される。

次に、48 時間目、72 時間目の成績であるが、Arthus 反応群は、24 時間目で著明に高値を示したあと、48 時間目でやや減少はするものの、依然として高値を保持し、そして、72 時間目にさらに低下する。これは、上述のように PBS 皮内注射群、未感作のものに抗原を皮内注射した群が、24 時間目に同様に著明に高値になるが、未感作のものに BSA 100 μg を皮内注射した群を除いて、48 時間目に急激に減少し、著明に低値を示すのと異なる。これは、PBS 皮内注射群や未感作モルモットに抗原を皮内注射した群で、48 時間目頃には G<sub>1</sub> 期→S 期を促進させる作用が失われていく一方、Arthus 反応群では、依然としてこれが持続しているためと理解したい。そして、これは Arthus 反応が、特に 24 時間目以後、表皮の DNA 合成能を高めるように影響する可能性が考えられる。

今回の実験で得た成績のうち、著者が最も重要視したい点は、HRP 100 μg 皮内注射にて惹起された強い Arthus 反応後、8 時間目までに表皮で LI が減少し、DNA 合成能が抑制されたとみられる点である。そして、この現象が、Arthus 反応惹起時に併発する他の型のアレルギーの関与している可能性を考え、IgG による IC で同様の現象が起こることを確認する目的で、HRP-anti HRP IgG IC を直接皮内注射し、表皮の LI を観察したが、同様の結果が得られた。これがいかなる機序で引き起こされたかということは大変興味深い。まず Arthus 反応による炎症に際し出現するヒスタミン、プロスタグランディンなど chemical mediator による影響や浸潤細胞による影響が考えられる。

Arthus 反応に伴う浸潤細胞については、今回の実験では多核白血球は 1 時間目より出現し、8 時間目に最も増加し、48, 72 時間目には減少した。これは Ueki ら<sup>17)</sup> の報告と多少時間のずれはあったが、ほぼ同じ結果であった。単核球の浸潤は、1, 24, 48, 72 時間目に多く、これは彼らの報告とかなり異なった。もし、浸潤細胞によるとするなら時間的経過からみて多核白血球の方に可能性はあるが、1 時間目からすでに抑制がみられたことなどから考えて、これもやや否定的である。表皮細胞における chalone<sup>18)</sup> の効果、あるいは epidermal growth factor<sup>19)</sup> に対する影響なども考えられる。又、一方、Arthus 反応の経過において、表皮細胞自身が、何らかの機能を果たすために DNA 合成の減少をきたした可能性も考えられる。

このような表皮細胞の分裂能や DNA 合成能の抑制は、0~10°C の温度、<sup>20)</sup> ショック、<sup>21)</sup> β 線の照射、<sup>22)</sup> 紫外線の照射<sup>23)</sup> によって起こることが報告されている。

臨床における、いわゆる IC 病と呼ばれる疾患の病態は、今回の実験のごとく、IC が一時的に存在するよりはむしろ、持続して存在している可能性が強い。今回の著者の成績は、このような病態で例えば lupus erythematoses や他の IC 病にみられる表皮の非薄化や肥厚といった状態をきたし得るといえる。

今後、Arthus 反応の際に表皮の DNA 合成能を抑制させる因子等についても追究したい。

稿を終えるにあたり、恩師植木宏明教授の御指導御校閲に感謝いたします。御助言を頂いた本学解剖学尾曾越文亮教授、数学教室有田清三郎助教授に感謝し、同時に解剖学研究補助員柳真佐子氏の御協力に感謝いたします。なお研究費の一部は本学プロジェクト研究助成金(56~402)によるもので併せて謝意を表します。

## 文 献

- 1) Cochrane, C. G. and Weigle, W. O.: The cutaneous reaction to soluble antigen-antibody complex. *J. exp. Med.* 108: 591—604, 1958
- 2) Cochrane, C. G. and Aikin B. S.: Polymorphonuclear leukocytes in immunologic reactions: The destruction of vascular basement membrane in vivo and in vitro. *J. exp. Med.* 124:



- 733—752, 1966
- 3) Henson, P. M.: Interaction of cells with immune complexes: Adherence, release of constituents, and tissue injury. *J. exp. Med.* 134: 114—135, 1971
  - 4) 益田俊樹, 植木宏明: Immune Complex と皮膚疾患 (II). *臨床皮膚科* 34: 263—275, 1980
  - 5) Igarashi, Y.: Autoradiographic studies on the proliferation of the skin using  $^3\text{H}$ -thymidine compound 1st report, clinical studies with special reference to the cornification of the skin. *Jap. J. Dermatol.* 77: 207—228, 1967
  - 6) 平田 明, 永田哲士: ミクロ・ラジオオートグラフィーの基礎的手技. 松澤大樹編: ラジオオートグラフ—手技と応用—. 東京, 朝倉書店, 1967, pp. 66—81
  - 7) Heidelberger, M. and Kendahl, F. E.: Continued quantitative theory of precipitin reaction: reaction between crystalline egg albumin and its homologous antibody. *J. exp. Med.* 62: 697—720, 1935
  - 8) Snedecor, G. W. and Cochran, W. G.: *Statistical Methods*, 6th ed. Ames, Iowa State Univ. Press. 1967, pp. 130—131
  - 9) Igarashi, Y.: Autoradiographic studies on proliferation of the skin using  $^3\text{H}$ -thymidine compound 2nd report, studies on animal experiment. *Jap. J. Dermatol.* 77: 229—238, 1967
  - 10) Weinstein, G. D.: Autoradiographic studies of turnover time and protein synthesis in pig epidermis. *J. invest. Dermatol.* 44: 413—419, 1965
  - 11) Alov, I. A.: Daily rhythm of mitosis and relationship between cell work and cell division. *Fed. Proc.* 22: [Trans Supp.] 357—362, 1963
  - 12) Bullough, W. S.: The effects of experimentally induced rest and exercise on the epidermal mitotic activity of the adult male mouse. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* 135: 233—242, 1948
  - 13) Bullough, W. S.: Mitotic activity in the male mouse, *Mus musculus* L. The diurnal cycles and their relation of walking and sleeping. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol]* 135: 212—233, 1948
  - 14) Scheving, L. E. and Pauly, J. E.: Daily mitotic fluctuations in the epidermis of rat and their relation to variations in spontaneous activity and rectal temperature. *Acta anat. (Basel)* 43: 337—345, 1960
  - 15) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Campbell, D. H.: The biological activity of soluble antigen-antibody complexes, II. Physical properties of soluble complexes having skin-irritating activity. *J. exp. Med.* 109: 127—143, 1959
  - 16) Kawamura, Y., Sonobe, K., Shimizu, M. and Hamaguchi, T.: Experimental contact dermatitis in mice. *J. Dermatol.* 1: 83—88, 1974
  - 17) Ueki, H., Kubo, M., Nakaye, M., Aoshima, T. and Masuda, T.: The morphology and time course of immune complexes injected into the skin of rabbits. *J. Dermatol.* 6: 173—178, 1979
  - 18) Bullough, W. S. and Laurence, E. B.: Mitotic control by internal secretion: the role of the chalone-adrenalin complex. *Exp. Cell Res.* 33: 176—194, 1964
  - 19) Cohen, S. and Elliott, G. A.: The stimulation of epidermal keratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. *J. invest. Dermatol.* 40: 1—5, 1963
  - 20) Storey, W. F. and Leblond, C. P.: Measurement of the rate of proliferation of epidermis and associated structure. *Ann. New York Acad. Sc.* 53: 537—545, 1951
  - 21) Green, H. N. and Bullough, W. S.: Mitotic activity in the shock state. *Brit. J. exp. Path.* 31: 175—182, 1950
  - 22) Fukuyama, K., Bernstein, I. A. and Curtis, A. C.: Effect of beta-radiation on mitotic activity in skin of young rat. *J. invest. Dermatol.* 32: 39—42, 1959

- 23) Pullmann, H., Galosi, A., Jakobeit, C. and Steigleder, G. K.: Effect of selective ultraviolet phototherapy (SUP) and local PUVA treatment on DNA synthesis in guinea pig skin. Arch. dermatol. Res. 267: 37-45, 1980

この論文は、免疫複合体に伴う表皮の増殖性変化に関するものである。著者は、豚の皮膚に免疫複合体を形成させ、その後の表皮の増殖性を調べた。実験には、豚の皮膚を用いた。免疫複合体は、豚の皮膚に注射された。その後、皮膚の増殖性を調べた。結果として、免疫複合体の形成に伴って、表皮の増殖性が抑制されたことが示された。これは、免疫複合体が表皮の増殖性を抑制する可能性があることを示している。この結果は、免疫複合体の形成に伴う皮膚病の発症メカニズムを解明する上で重要な手がかりを提供している。また、この結果は、免疫複合体の形成を抑制する治療法の開発にも役立つ可能性がある。著者は、この研究を通じて、免疫複合体の形成に伴う表皮の増殖性変化のメカニズムを明らかにしようとしている。この研究は、免疫学と皮膚学の分野で重要な貢献をしている。著者の研究は、免疫複合体の形成に伴う皮膚病の発症メカニズムを解明する上で重要な手がかりを提供している。また、この結果は、免疫複合体の形成を抑制する治療法の開発にも役立つ可能性がある。著者は、この研究を通じて、免疫複合体の形成に伴う表皮の増殖性変化のメカニズムを明らかにしようとしている。この研究は、免疫学と皮膚学の分野で重要な貢献をしている。