

Passive Arthus Reaction における皮膚内 Immune Complex の形成と分布 —抗原・抗体の種類と量比による影響—

和田 民子

passive Arthus reaction の immune complex (IC) の形成と分布に及ぼす、抗原・抗体の量の影響について2種類の抗原で検討した。passive Arthus reaction はモルモットの皮膚で、抗原を皮内注射し、抗体を静注することにより惹起された。抗原は horseradish peroxidase (HRP, MW 40,000) と bovine serum albumin (BSA, MW 67,000) を、抗体はそれぞれ抗 HRP ウサギ IgG と抗 BSA ウサギ IgG を用いた。passive Arthus reaction の惹起1時間後に、抗原を皮内注射した足底皮膚を生検し、凍結連続切片を作製した。抗原である HRP は Graham-Karnovsky 法の diaminobenzidine 反応 (DAB 反応) で、抗体と補体は蛍光抗体法で証明した。これら抗原・抗体・補体は IC を形成すると顆粒状の沈着物として認められる。顆粒状の沈着物は、真皮の毛細血管や細静脈の血管壁と dermo-epidermal junction (D-EJ) に認められた。5 mg, 3 mg, 1 mg の3段階の抗体量で、100 μ g, 25 μ g, 5 μ g, 1 μ g の4段階の抗原量について検討した。その結果、抗原が HRP でも BSA でも、抗体量が5 mg で、抗原量が100 μ g か 25 μ g であれば常に IC の形成が観察された。抗原量や抗体量を減量していくと、IC の沈着は減少し、D-EJ には認められなくなった。分子量のより小さい HRP は、BSA よりも少ない抗体量でも IC の形成がみられた。抗原・抗体・補体は IC を形成していても、必ずしも同時には検出されなかった。passive Arthus reaction の反応惹起1時間後、肉眼的にはほとんど変化が認められなくても、顕微鏡的に IC の存在が確認された。また、IC の沈着と炎症について hematoxylin-eosin (H-E) 染色を行って検討したが、IC の沈着と IC による炎症の程度に相関は認められなかった。

(昭和63年9月8日採用)

Immune Complex Formation and Its Distribution in Skin Undergoing the Passive Arthus Reaction

Tamiko Wada

The author investigated the effect of antigens and the quantitative ratio of antigens and antibodies on immune complex (IC) formation of the passive Arthus reaction and its distribution. The passive Arthus reaction was induced in guinea pig skin by intracutaneous injection of plain antigen and intravenous injection of its specific antibody. Horseradish peroxidase (HRP, MW 40,000) and bovine serum albumin (BSA, MW 67,000) were used as antigens. The antibodies were anti-

HRP rabbit IgG and anti-BSA rabbit IgG, respectively.

Experiments were carried out using 4 different doses of antigens; 100 μ g, 25 μ g, 5 μ g and 1 μ g, and 3 different quantities of antibodies; 5 mg, 3 mg and 1 mg. One hour after the induction of the passive Arthus reaction, the foot pad skin into which antigens had been injected was removed. The specimens were frozen, and serial sections were prepared. The sections were divided into 3 groups. Those in the first group were stained with fluorescein isothiocyanate(FITC)-labeled anti-rabbit IgG solution to detect rabbit IgG antibody. The sections in the second group were stained with FITC-labeled anti-guinea pig C3 solution to detect complement. The third group sections were stained by Graham and Karnovsky's method using 3,3'-diaminobenzidine (DAB) to prove the existence of antigen, when HRP was the antigen.

HRP, antibody and complement were observed as granular deposits when they had formed IC.

IC formation was always observed when 100 μ g or 25 μ g of antigen (HRP or BSA) and 5 mg of antibody were used. IC deposition was observed on the walls of the capillaries and venules of the dermis, and in the dermo-epidermal junction areas (D-EJ). As the antigens and/or antibodies were decreased, IC deposition decreased and eventually was not observed in the D-EJ.

When IC is formed, there are three components, antigen, antibody and complement, in general. But in some experiments, one or two of them were not detected though granular deposits were clearly observed.

The IC formation caused by HRP, which has a smaller molecular weight than BSA, could be recognized with the use of a smaller amount of antibody.

Macroscopically, few inflammatory findings were confirmed in the skin, though IC formation was observed microscopically.

In order to study the relationship between IC deposition and microscopical inflammation caused by IC, hematoxylin-eosin (H-E) staining was also performed. The extent of inflammation caused by IC did not appear to have any relation to the degree of IC deposition. (Accepted on September 8, 1988) *Kawasaki Igakkaishi* 14(4): 608-616, 1988

Key Words ① Immune complex ② Passive Arthus reaction ③ Antigen
④ Antibody ⑤ Complement

I. はじめに

膠原病や多くの皮膚疾患において、皮膚の dermo-epidermal junction (D-EJ) や血管壁に免疫グロブリンや補体の沈着が認められ、immune complex (IC) との関連が考えられている。しかし、多くの場合は抗原が不明であ

り、病態の解明には至らないものが多い。^{1)~3)}そこで、著者は、ICの皮膚内における沈着や動態を知り、臨床との関連をより深く理解する目的で、性状の比較的明らかな2種類の抗原を用いた動物実験モデルで、抗原や抗体の量を変えて passive Arthus reaction を起こし、ICの沈着がどのように検出され、変化するかを検討

した。抗原として horseradish peroxidase (HRP) と bovine serum albumin (BSA) を用い、この二つの抗原による違いについても検討を行った。IC は、HRP を diaminobenzidine 反応 (DAB 反応)⁴⁾ で、抗体・補体をそれぞれ特異的な抗体を使用した 蛍光抗体法で証明した。

II. 材料および方法

1. 動物; 体重約 600 g の ハートレー系 モルモット, オス

2. 抗原

(1) horseradish peroxidase (HRP, Sigma 社製, type IV, MW 40,000)

(2) bovine serum albumin (BSA, Sigma 社製, fraction V, MW 67,000)

3. 抗体の作製および精製

(1) 抗 HRP ウサギ IgG

HRP 5 mg/ml を Freund の不完全 アジュバント とともに、体重約 3 kg フレニッシュ・ジャイアント系ウサギの足底と背部に 3~4 か所に分けて皮下注射して感作した。約 4 週間後に、HRP 1 mg/ml を皮下に ブースター注射した。その約 10 日後に採血し、4°C、3,000 回転、10 分間遠沈して得られた血清を、56°C で 30 分間処理して補体を非働化した後、33% 飽和硫酸で 3 回塩析して、0.01 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2) で透析し、得られた crude globulin を DEAE セルロースカラムで分画し、IgG 画分を得た。抗体価は、Lowry 法 (Folin-Ciocalteu 法)⁵⁾ で測定した。

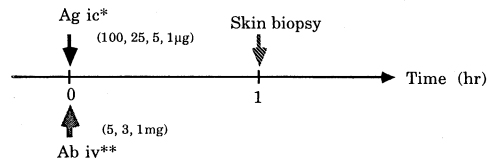
(2) 抗 BSA ウサギ IgG

BSA を抗原として、抗 HRP ウサギ IgG と同様の方法で作製・精製した。

4. 実施方法

(1) passive Arthus reaction

一定量の抗体 IgG 画分 (5 mg, 3 mg, または 1 mg) を体重 600 g のモルモットに静注し、同時に 100 μ g, 25 μ g, 5 μ g, 1 μ g の抗原 (HRP または BSA) を含む 0.1 ml の PBS を、それぞ



*Ag ic: Intracutaneous injections of antigen (HRP or BSA) of four different doses (100, 25, 5 and 1 μ g) into four foot pads of the guinea pig

**Ab iv: Intravenous injections of 5 or 3 or 1 mg antibody (anti-HRP rabbit IgG or anti-BSA rabbit IgG)

Fig. 1. Schedule of induction of the passive Arthus reaction and skin biopsy

れ前後肢 4 か所の足底に皮内注射し、passive Arthus reaction を惹起した。惹起注射 1 時間後に皮膚を採取して IC の沈着を観察した (Fig. 1)。

(2) コントロール

HRP または BSA の抗原のみ皮内注射して、抗体は投与せず、1 時間後に皮膚を採取した。

5. 抗原・抗体・補体の証明

(1) 抗原の検出

抗原が HRP の場合、4~6 μ の厚さの凍結切片を作製し、室温で 20 分間風乾して、一部はこのまま、一部は PBS で 20 分間、3 回洗浄した後、95% エタノールで 20 分間固定した。これに Graham-Karnovsky 法による DAB 反応⁴⁾ を行い、hematoxylin で後染色した。

(2) 抗体の検出

抗原の場合と同様の連続凍結切片を作製し、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識抗ウサギ IgG (MBL 社製, F/P 比 1.3) を 50 μ g/ml の濃度に希釈した溶液を用いて、37°C で、1 時間染色した。Nikon 蛍光顕微鏡を用い透過式で観察した。

(3) 補体の検出

抗体の場合と同様の方法で、FITC 標識抗モルモット C3 (MBL 社製, F/P 比 1.6) を 50 μ g/ml の濃度に希釈した溶液で染色し、観察した。

以上の DAB 反応、蛍光抗体法は、各標本についてそれぞれ 5 枚ずつ凍結切片を作製し観察した。

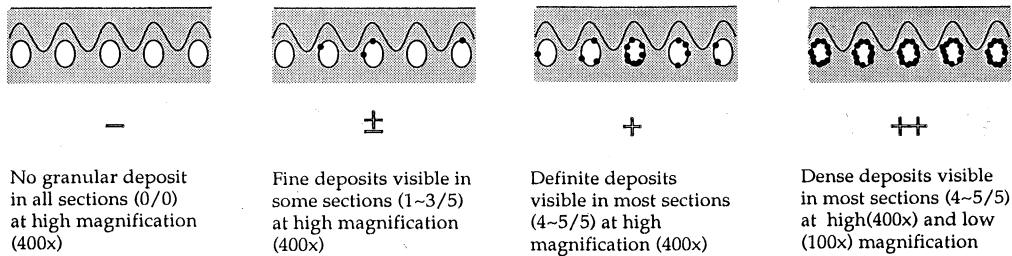


Fig. 2. The grading scale of the granular deposits of HRP, antibody and complement in skin undergoing the passive Arthus reaction. The number of deposits on one capillary indicates the degree of deposition in one section, and one skin scheme containing five capillaries corresponds to the five serial sections.

6. 皮膚組織所見の観察

上記の反応惹起部位からの生検標本の一部を 10%ホルマリン液で固定し、パラフィン包埋した標本で切片を作製し、H-E 染色を行って、光学顕微鏡で炎症所見などを観察した。

III. 結 果

1. 抗原・抗体・補体の証明

皮膚内 IC は、蛍光抗体法、DAB 反応のいずれの場合も、大小不規則顆粒状の沈着物として認められる。^{6)~11)} 一つの標本につきそれぞれ 5 枚の切片を観察し、その程度と割合から、**Figure 2** に示した基準のもとに判定した。¹²⁾ 各実験について 3~10 回行い、その結果をまとめたものを **Tables 1~6** に示した。

A. HRP を抗原とした passive Arthus reaction

洗浄を行わず直ちに 95% エタノールで固定して DAB 反応を行うと、びまん性に淡褐色に染まる遊離の HRP が観察されたが、固定前に PBS で 20 分間、3 回洗浄すると、この遊離 HRP はほとんど消失し、内因性ペルオキシダーゼもわずかに認めるのみであった。

(1) 抗体 (抗 HRP IgG) 5 mg を投与した場合

体重 600 g のモルモットに、5 mg の抗 HRP ウサギ IgG を静注して passive Arthus reaction を惹起する場合、同時に 100 μg, 25 μg,

Table 1. Immune complex formation caused by the passive Arthus reaction in the skin of guinea pigs injected with 4 different doses of HRP intracutaneously and 5 mg of anti-HRP rabbit IgG intravenously.

Granular deposits	Doses of HRP* (μg)			
	100	25	5	1
Rabbit-IgG				
D-E junction**	++~±	±	-	-
Capillaries	++	++~+	+	±
Venules	++	+	+	±
Guinea pig C3				
D-E junction**	±	±	-	-
Capillaries	++	++~+	+	±
Venules	++	+	+	±
HRP*				
D-E junction**	-	-	-	-
Capillaries	++~+	+	+	±
Venules	++~+	+	+	±

* Horseradish peroxidase

** Dermo-epidermal junction

5 μg の抗原を皮内注射すると、真皮乳頭層の毛細血管壁と、乳頭下層や網状層の血管 (主として細静脈) 壁に、顆粒状の抗原・抗体 IgG およびモルモット C3 の沈着が認められたが、抗原量 1 μg では、抗原・抗体・補体のいずれについても、わずかに陽性となる切片と陰性の切片があり、不確実な陽性であった。また、抗原量が 100 μg, 25 μg のときのみ、抗体であるウサギ IgG と補体のモルモット C3 の顆粒状の

沈着が D-EJ およびその周囲にも認められた (Table 1).

(2) 抗体 (抗 HRP IgG) 3 mg を投与した場合

抗体量が 3 mg の場合, 乳頭層・乳頭下層・網状層の血管壁では, 5 mg のときと同じように, 抗原量が 100 μ g, 25 μ g, 5 μ g では確実に, 1 μ g ではときに抗原・抗体・補体の顆粒状の沈着が認められた. しかし, D-EJ では顆粒状の沈着物は認められなかった (Table 2).

(3) 抗体 (抗 HRP IgG) 1 mg を投与した場合

D-EJ には特異的な沈着物は検出されなかった. 抗原量 100 μ g のときは, 乳頭層毛細血管壁と乳頭下層・網状層の細静脈壁で, 抗原・抗体・補体の三者が認められた. しかし, 抗原量 25 μ g では乳頭下層・網状層で, 5 μ g では真皮乳頭層でも血管壁の抗原が検出できない場合があった. 1 μ g の抗原量では, ときに抗体が血管壁に検出される場合もあったが, 抗原や補体は認められなかった (Table 3).

Table 2. Immune complex formation caused by the passive Arthus reaction in the skin of guinea pigs injected with 4 different doses of HRP intracutaneously and 3 mg of anti-HRP rabbit IgG intravenously.

Granular deposits	Doses of HRP (μ g)			
	100	25	5	1
Rabbit-IgG				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	+	+	\pm
Venules	+	+	+	\pm
Guinea pig C3				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	+	+	\pm
Venules	+	+	+	\pm
HRP				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	+	+	\pm
Venules	+	+	+	\pm

B. BSA を抗原とした passive Arthus reaction

(1) 抗体 (抗 BSA IgG) 5 mg を投与した場合

抗原量が 100 μ g, 25 μ g であれば, 真皮乳頭層の毛細血管壁, 乳頭下層・網状層の血管壁に顆粒状に抗体であるウサギ IgG と補体のモルモット C3 が確実に陽性であり, D-EJ にも陽性となる例がある. しかし, 抗原量 5 μ g, 1 μ g では, D-EJ は陰性であった. 5 μ g のときは, (ときに抗体・補体のいずれかが弱い場合もあるものの) 血管壁はほぼ陽性であったが, 1 μ g では血管壁も不確実な陽性となった (Table 4).

(2) 抗体 (抗 BSA IgG) 3 mg を投与した場合

D-EJ には抗体も補体もまったく認められない. 抗原量が 100 μ g のときは, 全例で血管壁に抗体・補体が陽性であったが, 25 μ g では抗体が陰性となることもあった. 5 μ g ではときに細静脈壁に補体のみ陽性の場合もあるが, 1 μ g ではすべて陰性となった (Table 5).

Table 3. Immune complex formation caused by the passive Arthus reaction in the skin of guinea pigs injected with 4 different doses of HRP intracutaneously and 1 mg of anti-HRP rabbit IgG intravenously.

Granular deposits	Doses of HRP (μ g)			
	100	25	5	1
Rabbit-IgG				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	+	+	+~ \pm
Venules	+	+	+	\pm
Guinea pig C3				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	+	+	-
Venules	+	+	+	-
HRP				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	+	\pm	-
Venules	+	+~ \pm	\pm	-

(3) 抗体 (抗 BSA IgG) 1 mg を投与した場合

どの抗原量でも IC の沈着はまったく認められなかった (Table 6).

C. コントロール

HRP または BSA の抗原のみ投与した場合は、どの抗原量でも、抗原・抗体・補体のいずれもまったく認められなかった。

2. 皮膚組織所見の観察

H-E 染色を行った標本の観察では、反応惹起1時間後に生検を行ったため、あまり著明な

変化は認められないものが多かった。抗原が HRP の場合も BSA の場合も、認められる所見はほぼ共通であった。すなわち、真皮乳頭層・乳頭下層・網状層の血管の拡張やうっ血と、主として好中球・好酸球よりなる多核白血球の浸潤と、リンパ球や線維芽細胞、組織球よりなる単核細胞の浸潤が真皮全層で種々の程度に認められた。特に血管周囲や汗腺・毛嚢周囲では密な細胞浸潤が認められた。しかし、これらの所見は、同一動物においては抗原量が多い場合の方が少ないときより強い傾向はあるものの、同一の抗原で、同一の抗原量・抗体量でも動物によりその程度は非常に異なっていた。

Table 4. Immune complex formation caused by the passive Arthus reaction in the skin of guinea pigs injected with 4 different doses of BSA intracutaneously and 5 mg of anti-BSA rabbit IgG intravenously.

Granular deposits	Doses of BSA* (μg)			
	100	25	5	1
Rabbit-IgG				
D-E junction	±	±	-	-
Capillaries	++~+	++~+	+~±	±
Venules	++~+	++~+	+~±	±
Guinea pig C3				
D-E junction	±	±	-	-
Capillaries	++~+	++~+	±	±
Venules	++~+	++~+	+	±

* Bovine serum albumin

Table 5. Immune complex formation caused by the passive Arthus reaction in the skin of guinea pigs injected with 4 different doses of BSA intracutaneously and 3 mg of anti-BSA rabbit IgG intravenously.

Granular deposits	Doses of BSA (μg)			
	100	25	5	1
Rabbit-IgG				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	+	±	-	-
Venules	+	±	-	-
Guinea pig C3				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	++	+	-	-
Venules	++	+	±	-

IV. 考 察

Arthus reaction は、Ⅲ型免疫複合体反応の代表的なものである。抗原で感作した動物に同じ抗原を皮内注射すると、2~4 時間後に注射部に浮腫・紅斑が生じ、さらには紫斑・壊死をみる (active Arthus reaction)。この反応は、抗体を静注して受動的に感作した動物に抗原を皮内注射しても起こる (passive Arthus reaction) し、正常個体に抗原を静注し抗体を皮内注射した場合にも起こる (reversed passive Arthus reaction)。¹³⁾ この実験では、精製し抗体価を測定した抗体を用いて抗体量を規定

Table 6. Immune complex formations caused by the passive Arthus reaction in the skin of guinea pigs injected with 4 different doses of BSA intracutaneously and 1 mg of anti-BSA rabbit IgG intravenously.

Granular deposits	Doses of BSA (μg)			
	100	25	5	1
Rabbit-IgG				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	-	-	-	-
Venules	-	-	-	-
Guinea pig C3				
D-E junction	-	-	-	-
Capillaries	-	-	-	-
Venules	-	-	-	-

し、一定量の抗原を皮内に、一定量の抗体を血管内に投与することにより passive Arthus reaction を起こし、1時間後に反応部位の皮膚を採取して、ICを形成している抗原・抗体・補体の検出と投与した抗原・抗体の量の関係について検討した。抗原としては分子量40,000のHRPと67,000のBSAを用いて、大きさや性状の異なるこの二つの抗原でどのような違いがみられるか検討した。また、蛍光抗体法やDAB反応で証明されたICの沈着と、H-E染色した組織での炎症所見との関連についても検討した。

HRPは、分子量40,000の酵素蛋白で、毒性がなく、生体内で血管透過性など体蛋白と同じような態度をとると考えられ、抗原性があり、DAB反応によりその局在が光顕的および電顕的に観察可能であり、しかも発色反応の酵素活性は抗HRP抗体によってもほとんど抑制されない。¹⁴⁾このため、HRPを抗原として用いれば、抗原・抗体・補体の三者が容易に証明できるので、ICの実験的観察に適している。また、BSAとともに高純度のものが市販されていてそのまま使用できる点でも好都合であった。

ICは、多くの場合、抗原と体液性抗体である免疫グロブリン(IgG)の結合したものであり、さらに補体の結合が起こる。したがって、抗原・抗体・補体の三者を同時に証明した場合はICと考えられる。また、DAB反応・蛍光抗体法において遊離の抗原・抗体・補体は洗浄すると容易に消失するのに対して、ICは顆粒状沈着物として認められ、PBS等で標本を洗浄しても除去され難いことが確認されている。^{8)~11)}今回の実験では、DAB反応については内因性のものを完全に否定することはできないが、反応惹起1時間後のこの時期には、H-E染色でも極く弱い細胞浸潤しか認められず、褐色顆粒の多くはHRPであると考えられた。蛍光抗体法で証明される顆粒状の抗体や補体の沈着物は、passive Arthus reactionの結果のICと考えられることより、抗体や補体が単独に検出された場合でもICの存在を示唆している可能性があると思われる。

1. ICの沈着と抗原・抗体の量

5mgの抗体を投与した場合、抗原がHRPであっても、BSAであっても、抗原量が100 μ g、25 μ gのときは確実にICの沈着が認められた。抗原量5 μ gでは、HRPを抗原とした場合は確実にICが検出されるが、BSAを抗原とした場合では抗体が検出されないこともある。抗原量1 μ gのときは、HRP・BSAともに、一つの切片のみでIC形成の有無を判断した場合は、陽性・陰性両方の可能性がある。

抗体量が3mgになると、HRPを抗原とした場合は、抗原量5 μ g以上では確実に、1 μ gでは不確実にICが検出され、抗体量5mgのときと似た結果であった。BSAを抗原とした場合は、抗原量100 μ gでは抗体・補体が検出されたが、25 μ gでは抗体が陰性となることもあり、5 μ gではときに補体を認めるのみとなり、1 μ gでは何も検出されなかった。

投与する抗体量が1mgのとき、BSAを抗原とした場合はどの抗原量でもICの形成はまったく認められなかった。これに対して、抗原がHRPのときは、抗原量5 μ g以上では抗体・補体が検出され、1 μ gの抗原量でもときに抗体の沈着が認められた。

したがってHRPの方が、BSAよりも少ない抗体量でもICを形成し検出されることがわかる。

また、今回投与した範囲では、抗原量・抗体量ともに多いほど、ICの沈着が強くなる傾向があった。モルモットの血液量は体重の4.5~8.3% (平均5.8%)¹⁵⁾より、体重600gのモルモットの血液量を約34.8mlとすれば、今回投与した抗体量は1mgのとき28.7 μ g/ml、3mgは86.2 μ g/ml、5mgは143.7 μ g/mlに相当する。体重60kgの人では血液量が約4,615mlであるとすれば、1mgは132.5mg、3mgは397.8mg、5mgは663.2mgに相当することになる。また、抗原・抗体の量と、(蛍光抗体法は定量的検査法ではないとはいえ)IC沈着の程度の間には比較的相関があったことより、臨床的に、同一症例における経過によるICの沈着の程度の変化は、その背景にある免

疫学的な現象の変化を反映していると考えられ、治療などの参考になると思われた。

今回の実験結果より、HRPのような分子量の小さい抗原の方が、BSAのような大きな分子量の抗原よりもより低い抗体価でもICを形成して検出されやすいのではないかと想像された。分子量が異なれば分子の大きさが違い、また、質量が一定であれば含まれる分子数が異なる。しかし、この二つの抗原の違いには、分子量以外にも抗原決定基の数等、多くの因子が考えられ、どのような条件がICの検出の感度に影響を与えているかは今後検討すべき課題である。

2. ICの局在

HRPを抗原とした場合も、BSAを抗原とした場合も、抗体量が5mgで、抗原量が100 μ g、25 μ gのときのみ、D-EJおよびその周囲に抗体や補体の沈着が認められることがあったが、これ以下の量では認められなかった。真皮では主に、乳頭層の毛細血管と乳頭下層・網状層の細静脈の血管壁に顆粒状の沈着物が検出された。毛細血管と細静脈に同時にICが陽性となる場合も多いが、抗原量・抗体量ともに十分な反応の場合、毛細血管の方がより明瞭に認められる傾向があり、抗原・抗体の量が少なくなると、いずれか一方しか認められないこともある。これらのことより抗原・抗体の種類は同じであっても、抗原・抗体の量によって、ICの局在は変化しうる事がわかる。

3. ICの沈着と炎症

益田によりウサギを用いたHRPを抗原とする reversed passive Arthus reaction で以下のような時間的経過が観察されている。¹⁹⁾ 反応惹起後15分で褐色顆粒は血管壁およびその周囲、膠原線維間、基底膜下にみられ、30分後には単核細胞の浸潤が著明となり、その顆粒が増加した。結合織内の顆粒は引き続き増加し、4~8時間後には多核白血球の浸潤と顆粒の貪食が著明となり、血管壁・膠原線維間の顆粒が減少し、24時間後にはほとんど消失した。

active Arthus reaction もほぼこれと同様であったという。

結合織内のICは30分~1時間後に最も著明に認められることより、ICの検出を目的とした今回の実験では、反応惹起1時間後に皮膚を採取し観察を行った。しかし、このとき、肉眼的には紅斑・浮腫等はなく、ほとんど変化を認めなかった。組織学的にも、蛍光抗体法やDAB反応でICが明らかに認められる場合でも、H-E染色ではあまり著明な変化は認められないことが多かった。また、抗原が異なっても認められる所見はほぼ共通であったが、同一の抗原で、同一の抗原量・抗体量でも、細胞浸潤等の炎症所見の程度は動物によりかなり差があり、抗原量・抗体量と炎症所見の程度は相関しなかった。これらのことより、ICの沈着の程度と、肉眼的所見や組織学的炎症の程度は一致しないといえる。ただし、これらは、反応惹起1時間後の時点だけをとらえた場合の結果である。しかし、このことより、臨床的に生検標本でICの沈着が証明された場合でも、その程度とH-E染色の組織所見や臨床症状の間にずれのある可能性が示され、systemic lupus erythematosus や Schönlein-Henoch 紫斑病の無疹部において免疫グロブリンの沈着が認められる^{17),18)} こととの関連も考えられた。

V. 総括

1. 抗原量・抗体量により、ICの沈着の程度は変化した。HRPはBSAより少ない抗体量でもICを形成した。
2. 抗原および抗体の量によりICの分布が変わった。
3. 抗原・抗体・補体は、ICを形成していても必ずしも同時には検出されなかった。
4. ICの沈着の程度と、肉眼的所見や組織学的炎症の程度は相関しなかった。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲頂いた川崎医科大学皮膚科学教室 植木宏明教授に感謝いたします。

文 献

- 1) Burnham, T. K., Neblett, T. R. and Fine, G.: The application of the fluorescent antibody technic to the investigation of lupus erythematosus and various dermatoses. *J. invest. Dermatol.* 41: 451—456, 1963
- 2) Cormane, R. H.: "Bound" globulin in the skin of patients with chronic discoid lupus erythematosus and systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1: 534—535, 1964
- 3) 益田俊樹, 植木宏明: Immune complex と皮膚疾患 (II). *臨皮* 34: 263—275, 1980
- 4) Graham, R. C., Jr. and Karnovsky, M. J.: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney. Ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.* 14: 291—302, 1966
- 5) Lowry, O. H., Rosebrough, M. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* 193: 265—275, 1951
- 6) Cochrane, C. G. and Weigle, W. O.: The cutaneous reaction to soluble antigen-antibody complexes. A comparison with the Arthus phenomenon. *J. exp. Med.* 108: 591—604, 1958
- 7) Cochrane, C. G., Weigle, W. O. and Dixon, F. J.: The role of polymorphonuclear leukocytes in the initiation and cessation of the Arthus vasculitis. *J. exp. Med.* 110: 481—494, 1959
- 8) Ueki, H. and Braun-Falco, O.: Immune deposits in passive Arthus phenomenon. Electron microscopic demonstration by use of peroxidase-labeled antibody. *Arch. Derm. Forsch.* 249: 91—98, 1974
- 9) Ueki, H., Weber, K. and Braun-Falco, O.: Reversed passive Arthus reaction using horseradish peroxidase as antigen. I. Light microscopical observations. *Arch. Derm. Forsch.* 250: 1—14, 1974
- 10) Weber, K., Ueki, H., Wolff, H. H. and Braun-Falco, O.: Reversed passive Arthus reaction using horseradish peroxidase as antigen. II. Light and electron microscopical observations. *Arch. Derm. Forsch.* 250: 15—32, 1974
- 11) Masuda, T., Ueki, H., Nohara, N. and Tanioku, K.: Distribution of immune deposits in the skin of reverse passive Arthus reaction using horseradish peroxidase as antigen. *J. Dermatol. (Tokyo)* 3: 31—36, 1976
- 12) Joselow, S. A. and Mannik, M.: Localization of preformed, circulating immune complexes in murine skin. *J. invest. Dermatol.* 82: 335—340, 1984
- 13) 益田俊樹, 植木宏明: Immune complex と皮膚疾患 (I). *臨皮* 34: 177—185, 1980
- 14) Straus, W.: Cytochemical detection of site of antibody to horseradish peroxidase in spleen and lymphnode. *J. Histochem. Cytochem.* 16: 237—248, 1968
- 15) 鈴木 潔: 実験動物学各論. 田島嘉雄編: モルモット. 東京, 朝倉書店. 1972, pp. 66—75
- 16) 益田俊樹: 皮膚における immune complex の沈着およびその動態. *日皮会誌* 87: 903—909, 1977
- 17) 安江 隆: 蛍光抗体法によるアナフィラキシー様紫斑病の皮膚ならびに腎の検索. *日皮会誌* 91: 149—154, 1981
- 18) Van Hale, H. M., Gibson, L. E. and Schroeter, A. L.: Henoch-Schölein vasculitis. Direct immunofluorescence study of uninvolved skin. *J. Am. Acad. Dermatol.* 15: 665—670, 1986