

Zum Mechanismus der Zellschädigung isolierter Rattenmastzellen bei der cytotoxischen Reaktion

Autor(en): **Keller, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **21 (1965)**

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-307629>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Dermatologische Klinik der Universität Zürich

Zum Mechanismus der Zellschädigung isolierter Rattenmastzellen bei der cytotoxischen Reaktion¹

Von R. Keller

Unter den verschiedenen Zelltypen des Bindegewebes nimmt die Gewebemastzelle deshalb eine einzigartige Stellung ein, weil sie sich durch einen besonders hohen Gehalt an biologisch aktiven Stoffen auszeichnet [30]. Sie enthält in ihren Granula insbesondere Histamin, Heparin sowie eine Reihe von aktiven Fermenten und noch nicht genauer definierten Stoffen (vgl. Tab. 1) [24, 30, 32]. Morphologisch sind diese Zellen durch eine mehr oder weniger große Zahl von im Cytoplasma gelegenen Granula (bei der Ratte 500/Zelle) und durch eine nur spärliche Entwicklung von Mitochondrien und endoplasmatischem Reticulum gekennzeichnet [vgl. 24]. Auf Grund der Ergebnisse morphologischer und biochemischer Untersuchungen darf vermutet werden, daß in diesen Zellen der Bildung und Stapelung des Histamins (bei gewissen Tierarten auch von 5-Hydroxytryptamin) und des Heparins eine zentrale Rolle zufällt, daß aber der Energiebedarf der Zelle wie auch die Fähigkeit zur Proteinsynthese eher gering sind [vgl. 24]. Verschiedene Daten sprechen für die Annahme, daß sich sowohl der kleine Lymphocyt, das immunologische Gedächtnis, wie die Zellen der Plasmazellreihe, die der Antikörpersynthese dienen, und die Mastzelle, das pharmakologische Zentrum der immunologischen Aktivität, aus den Stammzellen des lymphatischen Gewebes ableiten [vgl. 7]. Die Mastzelle kann auf die verschiedensten Reize prinzipiell mit zwei Reaktionstypen antworten: a) mit einer dem holokrinen Sekretionstyp entsprechenden, langsamen, intermittierenden Abgabe ihrer aktiven Stoffe, ohne daß hierbei morphologisch erfaßbare Zellveränderungen auftreten müssen. Diese Art der Sekretion dürfte zum physiologischen Aufgabenkreis der Zelle gehören; b) mit einer dramatischen Freisetzung des Granulainhaltes und Zelldisruption; dieser Reaktionstyp

¹ Die zitierten eigenen Arbeiten sind mit Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung durchgeführt worden.

Tabelle I
Biochemie der Mastzellen

<i>Granulafraktion</i>	<i>Überstand</i>
Heparin	Decarboxylasen
Histamin (20 pg/Zelle)	Histidin-Decarboxylase
5-Hydroxytryptamin (1 pg/Zelle; Ratte, Maus)	5-HTP-Decarboxylase (Ratte, Maus)
Dopamin	Dopa-Decarboxylase
Basisches Protein	Heparinbildende Fermente
Peptidasen: Chymotrypsin	ATP-Sulfurylase
Trypsin	APS-Kinase
Leucinaminopeptidase	Sulfotransferase
[Fibrinolysin]	
ATP-ase	
Glukuronidase	
Saure Phosphatase	
Alkalische Phosphatase	
[Phosphatidase A]	
<i>Mitochondrien-Fraktion</i> (Bernsteinsäure-Dehydrogenase, Aminooxydase, Fumarase)	

[] = vorläufige Ergebnisse

kann bei allen mit rascher Histaminfreisetzung aus dem Gewebe einhergehenden Vorgängen beobachtet werden; er ist in den letzten Jahren häufig als Versuchsmodell zum Studium der zur Zellschädigung führenden Vorgänge herangezogen worden.

Nachdem *Riley* und *West* [28, 29, 31] 1953 gezeigt hatten, daß in den meisten Geweben eine enge Korrelation zwischen Histamingehalt und Mastzellzahl besteht und diese Befunde von einer großen Zahl von Autoren bestätigt wurden, darf als gesichert gelten, daß der überwiegende Teil des Gewebehistamins in diesen Zellen gestapelt wird. Im Verlaufe dieser Untersuchungen hat sich darüber hinaus gezeigt, daß im Anschluß an Maßnahmen, die in einem bestimmten Gewebe eine Verminderung des Histamingehaltes bewirken, regelmäßig deutliche, morphologisch erfaßbare Veränderungen der Mastzellen erkennbar sind. Seit den Untersuchungen von *Bartosch* u. Mitarb. [5] sowie *Gebauer-Fuelnegg* u. Mitarb. [11] steht fest, daß bei der Anaphylaxie Histamin frei wird. Zudem wird allgemein angenommen, daß dem Histamin zumindest bei einigen Tierarten eine wichtige Rolle für das Zustandekommen dieses Syndroms zukommt. Es ist daher verständlich, daß dem Verhalten der Mastzellen bei Immunreaktionen zunehmende Beachtung geschenkt worden ist. Andererseits geht aus den Untersuchungen der letzten 50 Jahre hervor, daß dem Versuch, die für die Anaphylaxie in vivo wesent-

lichen biochemischen Vorgänge zu charakterisieren, der entscheidende Erfolg bisher versagt blieb. Um die für die Anaphylaxie wesentlichen Reaktionen zu erfassen, ist man deshalb in letzter Zeit mehr und mehr dazu übergegangen, diese Vorgänge in In-vitro-Systemen mit möglichst gut definierten Reaktionspartnern zu untersuchen. Außerdem sind Methoden entwickelt worden, die bei verschiedenen Tierarten, insbesondere aber bei der Albinoratte, die Isolierung von reaktionsfähigen Gewebemastzellen aus der Peritonäalhöhle erlauben. Damit ist es möglich geworden, das Verhalten isolierter Mastzellen in vitro gegenüber den verschiedensten Wirkstoffen zu studieren. Der Vergleich der Wirkungen solcher Stoffe in vivo und in vitro vermag zudem einen gewissen Einblick in deren Wirkungsmechanismus zu geben [vgl. 24].

Untersuchungen über die Wirkung von Immunreaktionen auf isolierte Gewebemastzellen sind, wie erwähnt, im wesentlichen auf die Ratte beschränkt. Die derzeit geltenden Vorstellungen über ihren Mechanismus sind schematisch in Abb. 1 a-e zusammengefaßt. Beim immunologisch besonders gut untersuchten und leicht sensibilisierbaren Meerschweinchen sind zur Zeit solche Untersuchungen nicht möglich. Bei der Ratte sind bisher vor allem die Verhältnisse bei der sogenannten cytotoxischen Reaktion eingehend untersucht worden. Darüber hinaus liegen auch eine Reihe von Untersuchungen über die Wirkung von Antigen auf Mastzellen von aktiv sensibilisierten Ratten in vitro vor. Die meisten dieser Arbeiten haben zur Schlußfolgerung geführt, daß Kontakt mit dem Antigen morphologische Veränderungen bewirkt oder Histamin aus den Zellen frei wird (vgl. Abb. 1 e). Die Angaben über das Ausmaß der Zellschädigung wechseln aber von Laboratorium zu Laboratorium stark [vgl. 24]. Obschon verschiedene Beobachtungen darauf hinweisen, daß der Mechanismus der Immuncytolyse der Mastzellen bei aktiver Anaphylaxie sich von demjenigen bei der cytotoxischen Reaktion in wesentlichen Punkten unterscheidet, ist eine zuverlässige Beurteilung noch nicht möglich. Antigen-Antikörper-Komplexe und aggregiertes Human- γ -Globulin wirken an Rattenmastzellen nicht cytotoxisch (vgl. Abb. 1 c und d).

1. Das Prinzip der cytotoxischen Reaktion

Diese Reaktion kommt dann zustande, wenn ein antigener Bestandteil einer Zelle oder ein spezifisch an die Zelle gebundenes Antigen oder Hapten mit Antikörper reagiert. Ein solcher Mechanismus wird für gewisse Transfusionsreaktionen, den Morbus haemolyticus neonatorum, die autoallergische hämolytische Anämie, Zellschädigungen bei Arzneimittelüberempfindlichkeit und als Ursache für verschiedene andere Er-

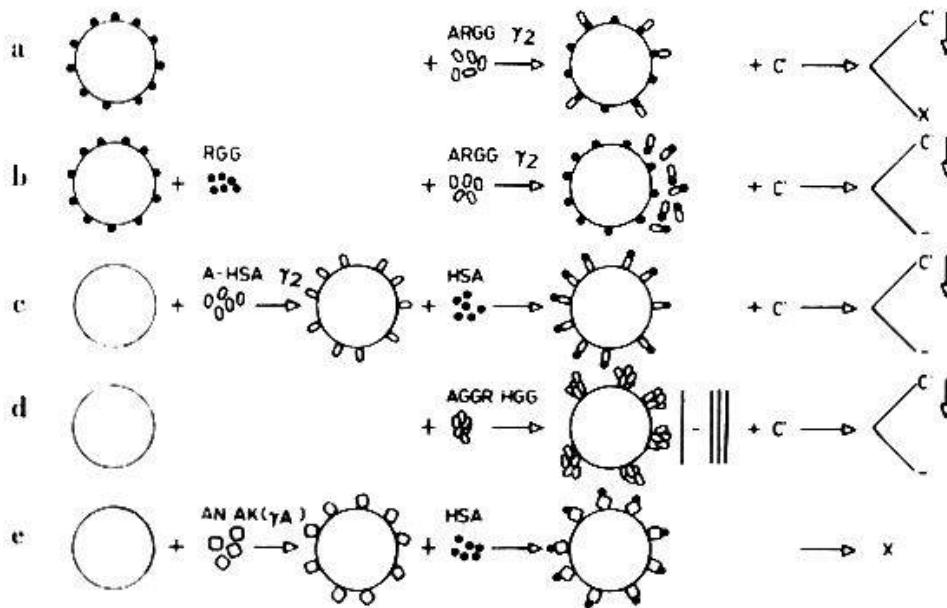


Abb. 1. Schematische Darstellung der in verschiedenen In-vitro-Modellsystemen mit isolierten Rattenmastzellen ablaufenden Reaktionen. – a) *Cytotoxische Reaktion*: Anti-Ratten- γ_2 -Globulin vom Kaninchen reagiert mit zellständigem Antigen; die cytotoxische Reaktion kommt aber erst in Gang, wenn zusätzlich hitzelabile Serumfaktoren gegenwärtig sind. – b) Im gleichen System wie a) vermindert die zusätzliche Gegenwart von Antigen (Ratten- γ_2 -Globulin) in Lösung die cytotoxische Reaktion; die Antigen-Antikörper-Reaktion läuft in Lösung ab. – c) Adsorption von cytophilem Antikörper (Anti-Humanserumalbumin) und die nachherige Bindung von Antigen (Humanserumalbumin) schädigt die Mastzelle nicht. – d) Fixation von hitzeaggregiertem Human- γ -Globulin an die Rattenmastzelle bewirkt auch in Gegenwart von hitzelablen Serumfaktoren keine nachweisbare Schädigung. – e) Postulierter Mechanismus der Zellschädigung von passiv oder aktiv mit anaphylaktischem Antikörper der Ratte sensibilisierten Rattenmastzellen durch Antigen.

- normale Rattenmastzelle
- ⊙ normale Rattenmastzelle; • antigene Rezeptorstellen auf ihrer Oberfläche (Ratten- γ -Globulin)
- C' hitzelabile Serumfaktoren
- C'↓ Komplementaktivität (C'H₅₀) im Verlauf der Reaktion deutlich vermindert
- X Histaminfreisetzung aus den Mastzellen
- |—||| Anzahl der Waschvorgänge
- ARGG Anti-Ratten- γ_2 -Globulin vom Kaninchen
- RGG Ratten- γ -Globulin
- HSA Humanserumalbumin
- A-HSA Anti-Humanserumalbumin (cytophiler Antikörper)
- aggr. HGG hitzeaggregiertes Human- γ -Globulin
- An. AK anaphylaktischer Antikörper der Ratte

krankungen des Menschen angenommen [vgl. 8]. Eine Voraussetzung für das Zustandekommen der Reaktion scheint demnach eine bestimmte, richtige Fixation des γ -Globulins (Antigen) an das Gewebe [9, 15, 27]; das bedingt eine zellständige Interaktion von Antigen und Antikörper; häufig ist auch die Beteiligung von Komplement erforderlich.

Eine Immunreaktion vom cytotoxischen Typ ist von *Austen* und *Humphrey* [3] und von *Keller* [16] nach Zugabe eines Kaninchenantisera gegen Ratten- γ -Globulin zu isolierten Rattenmastzellen beobachtet worden; daß die Reaktion spezifisch ist, wird durch Beobachtungen, wonach Anti-Ratten-Albuminserum inaktiv ist und Inkubation von Rattenmastzellen mit Antikörper in der Kälte Desensibilisierung bewirkt, unterstützt. Man darf daher annehmen, daß die Rattenmastzellen Ratten- γ -Globulin auf ihrer Oberfläche tragen.

2. *In-vitro*-Untersuchungen über den Mechanismus der cytotoxischen Reaktion isolierter Rattenmastzellen

Bei Inkubation isolierter, nicht vorbehandelter Mastzellen der Albinratte mit einem ebenfalls unbehandelten Kaninchenantiserum gegen Ratten- γ -Globulin kommt es zu morphologischen Veränderungen an den Zellen, die im Lichtmikroskop gut erkennbar sind: Schwellung der Granula und der Zelle, zum Teil Ausstoßen der Granula. Gleichzeitig ist pharmakologisch das Freiwerden von Histamin und 5-Hydroxytryptamin aus den Zellen feststellbar. Da die pharmakologische Bestimmung des Anteils an freiwerdendem Histamin besser reproduzierbare Resultate ergibt als die Ermittlung der morphologischen Veränderungen, ist sie zur quantitativen Beurteilung der Ergebnisse herangezogen worden. Die Ergebnisse der in diesem System durchgeführten Untersuchungen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt [25]. Aus ihnen geht hervor, daß der Vorgang außerordentlich rasch abläuft, daß er von der Temperatur, der Ionenstärke sowie der Gegenwart von Calciumionen abhängig ist und daß er durch eine große Zahl von Wirkstoffen gehemmt werden kann. Die zitierten Befunde sprechen auch dafür, daß im Verlaufe der Reaktion enzymatische Vorgänge von Bedeutung sind. Die Beobachtung, daß Alkylphosphate, wie z. B. Diisopropylfluorophosphat, die Reaktion hemmen, unterstützt diese Annahme und läßt es als wahrscheinlich erscheinen, daß eines der für den Vorgang wichtigen Fermente im aktiven Zentrum ein Serinmolekül besitzt. Aus diesem Grunde ist der Einfluß einer Reihe von synthetischen Peptidase-substraten auf den Ablauf der Reaktion untersucht worden. Diese Versuche ergaben, daß die geprüften Trypsin-, Leucinaminopeptidase- oder Carboxypeptidasesubstrate oder -inhibitoren die Reaktion nicht beeinflussen. Dagegen ist in Gegenwart einer Reihe von synthetischen Chymotrypsinsubstraten eine Hemmung beobachtet worden. Dieser Hemmeffekt ist aber nur dann nachweisbar, wenn das Substrat im Zeitpunkt der Antigen-Antikörper-Reaktion gegenwärtig ist. Diese Untersuchungs-

Tabelle 2

Bedingungen für das Zustandekommen einer cytotoxischen Reaktion
unter verschiedenen Versuchsbedingungen

$Mz^{Rn} + ARGC^{n Kan}$	$\rightarrow Mz^*$ <ul style="list-style-type: none"> ~80% Histamin 5-HT Temperatur, Zeitverlauf Ionenstärke Calcium (nicht Mg^{++}) Hemmung durch EDTA ($10^{-3} M$) Heparin (1000 μg) Salicylaldoxim ($10^{-3} M$) Phlorizin ($10^{-2} M$) unspezif. Hemmer Alkylphosphate ($10^{-3} M$) synthetische Chymotrypsinsubstrate
--------------------------	--

- Mz^{Rn} = von unbehandelten Ratten isolierte Peritonäalmastzellen
 $ARGC^{n Kan}$ = unbehandeltes Anti-Ratten- γ_2 -Globulinserum vom Kaninchen
 Mz^* = geschädigte Mastzellen

ergebnisse unterstützen die Vorstellung, daß im Verlauf der Antigen-Antikörper-Reaktion eine unspezifische, chymotrypsinähnliche Esterase aktiviert wird [25]. Daß dieses Ferment jedoch nicht mit bovinem α -Chymotrypsin identisch ist, geht aus dem Vergleich des biochemischen Verhaltens wie auch der pharmakologischen Wirkungen der beiden Fermente hervor.

Es stellte sich nun die Frage nach der Herkunft dieses Fermentes. Da das erwähnte In-vitro-System nur aus Mastzellen und Antiserum besteht, muß es in einer der beiden Komponenten enthalten sein. Ein in den Mastzellen vorhandenes, chymotrypsinähnliches Ferment unterscheidet sich bezüglich Hemmbarkeit durch unspezifische Stoffwechselinhibitoren vom während der Reaktion aktivierten Ferment [17]; zudem scheint das Mastzellenzym bereits im aktiven Zustand vorzuliegen, währenddem das für die Reaktion bedeutungsvolle Ferment zuerst aktiviert werden muß.

3. Zur Bedeutung hitzelabiler Serumfaktoren für die Reaktion

Da die erwähnten Daten gegen eine Beteiligung des zellständigen Fermentes sprechen, ist in der Folge der Serumkomponente des In-vitro-Systems vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt worden. Erste Versuche haben ergeben, daß hitzeinaktiviertes Antiserum (30 min. $56^\circ C$) bei Verwendung kleiner Antikörperkonzentrationen (Endkonzentration 2 bis 3 $\mu g/ml$) weder eine Zellschädigung noch eine Freisetzung von Histamin bewirkt, daß aber durch Zufügen eines geeigneten, artfremden

Frischserums eine Reaktivierung des Vorganges erreicht werden kann (vgl. Abb. 1 a) [18]. *Humphrey* u. Mitarb. [13] beobachteten, daß wesentlich höhere Konzentrationen an Antikörper (50–450 $\mu\text{g}/\text{ml}$) bereits allein cytotoxische Effekte ausüben können. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß es sich hierbei um artefizielle Bedingungen handelt; diese Befunde werden deshalb in der Folge nicht mehr berücksichtigt. Alle verfügbaren Daten, wie die Hitzestabilität und das Verhalten bei Chromatographie über DEAE-Cellulose und Sephadex G-200 wie auch in der Ultrazentrifuge sprechen dafür, daß der Antikörper ein klassisches γG -(γ_2 -)Globulin ist [24]. Die erwähnten Befunde, nach denen die Interaktion von zellständigem Ratten- γ -Globulin mit Anti-Ratten- γ_2 -Globulin so lange ohne zellschädigende Wirkung bleibt, als nicht zusätzlich gewisse hitzelabile Serumfaktoren vorhanden sind, ließen die Vermutung aufkommen, daß diese Faktoren mit hämolytischem Komplement identisch sein könnten. Die zur Abklärung dieser Frage durchgeführten Experimente haben ergeben, daß die Reaktion im Mastzellsystem eine Reihe von Eigenschaften aufweist, die denjenigen des hämolytischen Komplements entsprechen: a) Inaktivierung durch Erhitzen des Serums (30 min. 56°C); b) Inaktivierung durch Alterung des Serums; c) Abhängigkeit von der Gegenwart von Calciumionen und von der Ionenstärke; d) Hemmung durch EDTA, Salicylaldoxim, Phlorizin, Heparin; e) Verbrauch von Komplement im Verlauf der Reaktion; f) Hemmung der Reaktion durch komplementverbrauchende Maßnahmen, wie z. B. durch aggregiertes Human- γ -Globulin; g) Hemmung der Reaktion durch Schädigung gewisser Komplementkomponenten (R-Seren) [19]. Auch die Tatsache, daß sich in den verschiedenen klassischen In-vitro-Systemen mit Gewebe vom Schaf [26], Meerschweinchen [2] oder Kaninchen [4] ähnliche Verhältnisse vorfinden wie im Rattenmastzellsystem, spricht für die Bedeutung einer den erwähnten Systemen gemeinsamen Komponente [19]. Soweit können die erwähnten Befunde zwanglos im Sinne einer Beteiligung von hämolytischem Komplement im Rattenmastzellsystem interpretiert werden.

Weitere Untersuchungen haben jedoch starke Zweifel an dieser Hypothese aufkommen lassen. Wenn die Annahme richtig ist, daß dem Komplementkomplex im Rattenmastzellsystem und im System der Immunnämolyse dieselbe funktionelle Bedeutung zukommt, so müßte ein bestimmtes Serum in beiden In-vitro-Systemen gleich wirksam sein. Dies ist jedoch, wie unsere früheren [19] und inzwischen durch *Austen* und *Bloch* [1] bestätigten Befunde zeigen, keineswegs der Fall: Seren gewisser Species, die im Immunnämolyse-System aktiv sind (Meerschweinchen-, Hamsterserum), sind im Rattenmastzellsystem nicht besonders aktiv;

Human-, Kaninchen- und Schweineserum, die im Rattenmastzellsystem sehr aktiv sind, zeigen im Immunhämolyse-System eine relativ geringe Aktivität. Darüber hinaus hat sich gezeigt, daß im Rattenmastzellsystem humanes R₂-Serum [19] sowie Serum von Kaninchen, die einen genetisch bedingten C'₃-Mangel aufweisen [21], ebenfalls aktiv sind. Untersuchungen über die Wirkung von aktiviertem Euglobulin oder von gereinigter, aktivierter C'_{1a}-Esterase haben ergeben, daß diese Präparate an Rattenmastzellen keine Schädigung bewirken [vgl. 24]. Die so vorbehandelten Mastzellen werden aber in der Folge durch eine Reihe von Stoffen, die an normalen Zellen keinen schädigenden Effekt haben, lysiert. Diese Befunde unterstützen die Annahme, daß im Rattenmastzellsystem für das Zustandekommen der cytotoxischen Reaktion nur gewisse Komponenten des hämolytischen Komplements, insbesondere die C'_{1a}-Esterase oder ein ähnliches Ferment, erforderlich sind, daß aber darüber hinaus zumindest noch eine weitere im Serum enthaltene Komponente gegenwärtig sein muß.

4. Zum Mechanismus der Zellschädigung bei der cytotoxischen Reaktion

Auf Grund der bereits diskutierten Untersuchungsergebnisse darf angenommen werden, daß die Rattenmastzelle, entweder als normaler Bestandteil ihrer Zellmembran oder auf deren Oberfläche adsorbiert, Ratten- γ -Globulin trägt. Zugabe niedriger Konzentrationen von gereinigtem Anti-Ratten- γ -Globulin (γ_2) bewirkt weder mit pharmakologischen noch mit morphologischen Methoden erfaßbare Veränderungen an den Zellen. Diese treten jedoch sofort auf, wenn zudem ein geeignetes Frischserum zugefügt wird (vgl. Abb. 1 a).

Die dabei auftretende Zellschädigung kann grundsätzlich entweder durch eine zellständige Antigen-Antikörper-Reaktion oder durch ein cytotoxisches Prinzip, das während einer zellfernen Antigen-Antikörper-Reaktion gebildet würde und dann seinerseits die Zelle schädigen würde, zustande kommen. Wir haben in den letzten Jahren am Rattenmastzellsystem ausgedehnte Untersuchungen zu dieser Frage durchgeführt [22, 23]. Auf Grund dieser Versuche ist die zellferne Bildung eines cytotoxischen Prinzips, z. B. des von *Fischer* [10] postulierten Lysolecithins, sehr unwahrscheinlich. Zudem läßt sich auch bei zellständigem Komplementverbrauch keine Zellschädigung nachweisen [23]. Andererseits ist erwiesen, daß die Reaktion zwischen zellfixiertem Antigen, dem Antikörper und hitzelabilen Serumfaktoren sofort dramatische Veränderungen zur Folge hat; die zellferne Reaktion dieser Komponenten bleibt dagegen ohne nachweisbare Folgen für die Zelle [20]. Kürzlich haben *Green* und

Goldberg [12] die experimentellen Unterlagen zusammengestellt, die für die Annahme eines unter diesen Versuchsbedingungen für sehr verschiedene Zelltypen ähnlichen Lysemechanismus sprechen. Danach führt die zellständige kombinierte Wirkung von Antikörper und Komplement über die Bildung funktioneller Membrandefekte zu irreversiblen Verlust der Permeabilität und damit zu strukturellen und chemischen Veränderungen der Zelle, die je nach Aufbau von Zelltyp zu Zelltyp verschiedene Charakteristika aufweisen können. Die morphologischen Unterlagen für eine derartige Vorstellung sind in jüngster Zeit durch elektronenmikroskopische Untersuchungen von *Humphrey* u. Mitarb. [6, 14] geliefert worden. Danach weisen die Membranen von Erythrocyten, Krebs-Ascites-Tumorzellen und Rattenmastzellen im Anschluß an eine cytotoxische Immunreaktion tatsächlich charakteristische, lochartige Defekte auf. Ungeklärt bleibt, wie diese Defekte entstehen. Hypothetisch können vor allem zwei Möglichkeiten in Frage kommen:

a) durch den zellständig fixierten Antigen-Antikörper-Komplex werden Serumenzyme (Komplement) aktiviert, und diese bewirken am Ort ihrer Aktivierung umschriebene Veränderungen in der Membran, und zwar vermutlich in deren Lipidanteil.

b) Komplement ermöglicht die richtige, «spezifische» Anlagerung des Antikörpers an das zellständige Antigen, eventuell auch die Koppelung von zwei Antikörpermolekülen; auf diese Weise entsteht ein Makromolekül, das sich mit mehreren Bindungsstellen fest an die Membran anhaftet und so einen cellulären Fermentmechanismus aktiviert.

Auf Grund der vorliegenden Daten ist nicht zu entscheiden, ob eine der beiden Vorstellungen oder eine Kombination der beiden tatsächlich ins Spiel kommt. Auf jeden Fall machen die zitierten elektronenmikroskopischen Befunde [14] wahrscheinlich, daß im Falle von γ_2G -Antikörper, wie beispielsweise im vorliegenden In-vitro-System mit Rattenmastzellen, für jede einzelne Membranläsion mindestens zwei Antikörpermoleküle erforderlich sind. Die Beobachtung, daß weder aggregiertes Human- γ -Globulin noch in mäßigem Antigenüberschuß hergestellte Antigen-Antikörper-Komplexe auch bei zellständigem Kontakt mit Komplement zu einer Zellschädigung führen, weisen jedenfalls darauf hin, daß nicht jeder zellständige Verbrauch von Komplement cytotoxisch wirken muß. Vermutlich ist hierfür zudem eine ganz bestimmte, mehr oder weniger feste Bindung des Immunkomplexes an die Zellmembran notwendig.

Zusammenfassung

Einleitend wird kurz auf die Bedeutung der Gewebemastzelle als pharmakologischem Zentrum der immunologischen Aktivität eingegangen und auf die Vorteile von In-vitro-Systemen für die Analyse der für die Anaphylaxie wesentlichen biochemischen Vorgänge hingewiesen. Bis heute bleiben systematische Untersuchungen auf isolierte Mastzellen der Albinoratte beschränkt, und an diesen ist nur die sogenannte cytotoxische Reaktion so eingehend untersucht worden, daß einige gesicherte Vorstellungen über ihren Mechanismus vorliegen. Die heutigen Vorstellungen über den Vorgang der Mastzellschädigung und der damit erfolgenden Freisetzung von Histamin und anderen biologisch aktiven Stoffen durch Anti-Ratten- γ_2 -Globulin vom Kaninchen und hitzelabile Serumfaktoren werden an Hand der bisher vorliegenden Untersuchungen diskutiert.

Résumé

L'auteur discute tout d'abord de l'importance des mastocytes tissulaires en tant que centrale pharmacologique de l'activité immunologique et des avantages de l'analyse in vitro des processus biochimiques les plus importants pour l'étude de l'anaphylaxie. Ces examens systématiques se limitent aujourd'hui aux mastocytes isolés du rat albinos et les réactions dites cytotoxiques ont pu être examinées de façon si précise, qu'il nous est possible aujourd'hui de se faire une idée claire sur leur mécanisme. Les conceptions actuelles sont discutées sur la base des expériences réalisées concernant la lésion des mastocytes et la libération d'histamine et d'autres substances biologiquement actives par la γ_2 -globuline anti-rat du lapin et des facteurs thermolabiles sériques.

Riassunto

All'inizio si accenna in breve all'importanza dei mastociti («Mastzellen») dei tessuti come centro farmacologico dell'attività immunologica. Si discutono pure i vantaggi dei sistemi «in vitro» per l'analisi dei processi biochimici più importanti nell'anafilassi. Ricerche sistematiche furono fatte finora solo sui mastociti isolati del topo albino ed anche in questo caso soltanto le cosiddette «reazioni citotossiche» furono analizzate abbastanza profondamente da potersi fare qualche idea concreta sul loro meccanismo. Sulla base delle ricerche fatte finora, si discutono le teorie odierne sul meccanismo conducente alla lesione di mastociti ed alla conseguente liberazione di istamina ed altre sostanze biologicamente attive mediante γ_2 -globulina anti-topo ottenuta dal coniglio e fattori termolabili del siero.

Summary

The role of the tissue mast cell as a pharmacological center of immunological activity and the advantages of in-vitro systems for the analysis of the basic biochemical processes leading to anaphylaxis are briefly discussed. So far, systematic investigation is restricted to isolated mast cells of the rat, and with such cells, only the so-called cytotoxic reaction has been examined to such an extent that certain firm concepts may be produced. Present concepts of the mechanism of cellular injury and of the release of histamine from rat mast cells by rabbit anti-rat γ_2 -globulin and heat-labile serum factors are discussed on the basis of recent experiments.

1. Austen K. F. und Bloch K. J.: Differentiation *in vitro* of antigen-induced histamine release from complement-dependent immune injury. In: Ciba Foundation Symposium on Complement, p. 281-298. Churchill, London 1965.
2. Austen K. F. und Brocklehurst W. E.: Anaphylaxis in chopped guinea-pig lung. I: Effect of peptidase substrates and inhibitors. J. exp. Med. 113, 521-539 (1961).
3. Austen K. F. und Humphrey J. H.: Release of histamine from rat peritoneal mast cells by antibody against rat γ -globulin. J. Physiol. (Lond.) 158, 36P (1961).
4. Barbaro J. F.: The release of histamine from rabbit platelets by means of antigen-antibody precipitates. I. and II. J. Immunol. 86, 369-376 und 377-381 (1961).
5. Bartosch R., Feldberg W. und Nagel E.: Das Freiwerden eines histaminähnlichen Stoffes bei der Anaphylaxie des Meerschweinchens. Pflügers Arch. ges. Physiol. 230, 129-153 (1932).
6. Borsos T., Dourmashkin R. R. und Humphrey J. H.: Lesions in erythrocyte membranes caused by immune haemolysis. Nature (Lond.) 202, 251-252 (1964).
7. Burnet F. M.: A Darwinian approach to immunity. Nature (Lond.) 203, 451-454 (1964).
8. Coombs R. R. A. und Gell P. G. H.: The classification of allergic reactions underlying disease. In: Clinical Aspects of Immunology, p. 317-337. Blackwell, Oxford 1963.
9. Van den Ende M.: Reversed passive anaphylaxis in the guinea-pig. J. Hyg. (Lond.) 40, 377-395 (1940).
10. Fischer H. und Haupt I.: Das cytolysierende Prinzip von Serumkomplement. Z. Naturforsch. 16b, 321-328 (1961).
11. Gebauer-Fuelnegg E., Dragstedt C. A. und Mullenix R. B.: Observations on a physiologically active substance appearing during anaphylactic shock. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 29, 1084-1086 (1932).
12. Green H. und Goldberg H.: The action of antibody and complement in mammalian cells. Ann. N.Y. Acad. Sci. 87, 352-362 (1960).
13. Humphrey J. H., Austen K. F. und Rapp H. J.: In vitro studies of reversed anaphylaxis with rat cells. Immunology 4, 226-245 (1963).
14. Humphrey J. H. und Dourmashkin R. R.: Electron microscopic studies of immune cell lysis. In: Ciba Foundation Symposium on Complement, p. 175-186. Churchill, London 1965.
15. Humphrey J. H. und Mota I.: The mechanism of anaphylaxis: observations on the failure of antibodies to sensitize guinea pigs in direct and reversed passive anaphylaxis. Immunology 2, 19-30 (1959).
16. Keller R.: Effect of antibodies against rat γ -globulin or rat albumin on isolated peritoneal rat mast cells. Nature (Lond.) 196, 281 (1962).

17. Keller R.: Anaphylaxis in isolated rat mast cells. II: The effect of non-specific metabolic inhibitors on histamine release by antibody and on histochemical demonstration of non-specific esterase. *Int. Arch. Allergy* 23, 315-320 (1963).
18. Keller R.: Zur Bedeutung von Komplement bei der umgekehrten Anaphylaxie isolierter Mastzellen der Albinoratte. *Path. et Microbiol. (Basel)* 26, 671-677 (1963).
19. Keller R.: Anaphylaxis in isolated rat mast cells. III: Localization of the chymotrypsin-type proesterase in heat-labile serum components. *Int. Arch. Allergy* 24, 256-277 (1964).
20. Keller R.: Cellular location of antigen-antibody reaction in anaphylactic cytolysis. *Nature (Lond.)* 202, 1018-1019 (1964).
21. Keller R.: Further evidence of the existence of differences in the mechanism of immune cellular injury of sheep erythrocytes and rat mast cells. *Experientia (Basel)* 21, 295 (1965).
22. Keller R.: Zur Bedeutung von Lysolecithin für die Immuncytolyse von Mastzellen. *Path. et Microbiol. (Basel)* 28, 185-196 (1965).
23. Keller R.: Anaphylaxis in isolated rat mast cells. IV: Studies on the possible role of lysolecithin as an agent responsible for immune cellular injury. *Int. Arch. Allergy* 28: 201-216 (1965)
24. Keller R.: Tissue mast cells in immune reactions. S. Karger, Basel/New York 1965 (im Druck).
25. Keller R. und Beeger I.: Anaphylaxis in isolated rat mast cells. I: Effect of peptidase substrates and inhibitors. *Int. Arch. Allergy* 22, 31-44 (1963).
26. Mayer M. M.: Studies on the mechanism of hemolysis by antibody and complement. *Progr. Allergy* 5, 215-270 (1958).
27. Ovary Z.: Reverse passive cutaneous anaphylaxis in the guinea pig with horse, sheep or hen antibodies. *Immunology* 3, 19-27 (1960).
28. Riley J. F.: The effect of histamine liberators on the mast cells of the rat. *J. Path. Bact.* 65, 471-479 (1953).
29. Riley J. F.: Histamine in tissue mast cells. *Science* 118, 332-333 (1953).
30. Riley J. F.: The mast cells. Livingstone, Edinburgh 1959.
31. Riley J. F. und West G. B.: The presence of histamine in tissue mast cells. *J. Physiol. (Lond.)* 120, 528-537 (1953).
32. Schauer A.: Die Mastzelle. G. Fischer, Stuttgart 1964.