

## 睫毛乱生に続発したラクトフェリンによる角膜アミロイドーシスの 1 例

奥田 聡哉<sup>1)</sup>, 松本 光希<sup>2)</sup>, 安東由喜雄<sup>3)</sup>, 宮嶋 聖也<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>ひかりヶ丘醫院眼科・内科, <sup>2)</sup>熊本市立熊本市民病院眼科

<sup>3)</sup>熊本大学医学部附属病院臨床検査医学, <sup>4)</sup>熊本大学医学部眼科学教室

### 要 約

**目 的**：睫毛乱生に続発した角膜アミロイドーシスの症例を経験し、沈着アミロイドとしてラクトフェリンを同定したので報告する。

**症 例**：30 歳，男性。右眼角膜の瞳孔領下方に灰白色で表面不整な隆起性病変があり，下眼瞼の睫毛が一部病変部に接触していた。

**方 法**：角膜病変部の切除を行い，切除標本を形態学的に検討した。

**結 果**：病理組織所見では，角膜上皮直下に Congo red 染色陽性の沈着物が存在し，その沈着物は偏光顕微鏡で帯黄緑色～帯緑色の偏光を呈した。免疫染色では抗

ヒトラクトフェリン抗体に対して陽性であった。

**結 論**：形態学的な検討から，病変部沈着物の本体はラクトフェリンと考えられた。発症機序としては，涙液由来のラクトフェリンが睫毛乱生による上皮障害と再被覆を繰り返す間に上皮下に沈着し，さらに，慢性刺激により化学的修飾を受けてアミロイドを形成したと考えられた。(日眼会誌 107：105-108, 2003)

**キーワード**：角膜アミロイドーシス，ラクトフェリン，睫毛乱生

## A Case of Corneal Lactoferrin Amyloidosis Secondary to Trichiasis

Toshiya Okuda<sup>1)</sup>, Koki Matsumoto<sup>2)</sup>, Yukio Ando<sup>3)</sup> and Seiya Miyajima<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Hikarigaoka Clinic

<sup>2)</sup>Department of Ophthalmology, Kumamoto City Hospital

<sup>3)</sup>Department of Laboratory Medicine, Kumamoto University School of Medicine

<sup>4)</sup>Department of Ophthalmology, Kumamoto University School of Medicine

### Abstract

**Purpose** : A case of corneal lactoferrin amyloidosis secondary to trichiasis is reported.

**Case** : A 30-year-old male suffered from trichiasis with an elevated gray whitish lesion just under the center of the cornea in his right eye. The lesion had an irregular surface.

**Method** : We excised the corneal lesion, and studied the excised corneal lesion morphologically.

**Result** : The deposit observed just under the corneal epithelial layer was positive for Congo red staining, and showed dichroism under polarizing microscopy. The deposit also showed a immunore-

activity against anti-human lactoferrin antibody.

**Conclusion** : The morphological study proved that the deposits under the corneal lesion were derived from lactoferrin. Long term injury of the corneal surface by trichiasis may lead to the deposition and structural changes of lactoferrin originating from tears.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 107 : 105-108, 2003)

**Key words** : Corneal amyloidosis, Lactoferrin, Trichiasis

## I 緒 言

アミロイドーシスとは，様々な組織の細胞外へのアミロイドと呼ばれる物質の沈着によって特徴付けられる疾患群の総称である。アミロイドーシスは，原発性と続発

性，全身性と限局性に分類される。角膜アミロイドーシスも原発性と続発性に分類され，原発性のもとしては格子状角膜変性，膠様滴状角膜変性があり，続発性のもとしては円錐角膜，睫毛乱生，水疱性角膜症，実質性角膜炎，トラコーマなどの慢性炎症性疾患に伴うものが

別刷請求先：861-1112 熊本県菊池郡合志町幾久富 1909-1379 ひかりヶ丘醫院眼科・内科 奥田 聡哉  
(平成 14 年 4 月 3 日受付，平成 14 年 7 月 5 日改訂受理)

Reprint requests to : Toshiya Okuda, M. D. Hikarigaoka Clinic, 1909-1379 Kikutomi, Koushi-machi, Kikuchi-gun, Kumamoto 861-1112, Japan

(Received April 3, 2002 and accepted in revised form July 5, 2002)

ある<sup>1)</sup>。

アミロイドは特徴的な構造を有する微細な線維から成るが、その線維中の構成蛋白はアミロイドーシスの種類によって様々であり、現在までに免疫グロブリンL鎖、H鎖、血清A蛋白などの15種類が同定されている<sup>2)</sup>。眼科領域においても睫毛乱生に続発した角膜アミロイドーシスの症例の報告<sup>3)~9)</sup>があるが、我々の知り得た限りでは免疫グロブリンL鎖が検出された症例<sup>8)</sup>を除いて、アミロイド蛋白の同定に至ったものはない。今回、我々は睫毛乱生が原因で発症したと考えられる角膜アミロイドーシスの症例を経験し、その沈着物の主要構成成分として、免疫組織化学的に初めてラクトフェリンを同定し、その発生機序に関して考察を加えたので報告する。

## II 症 例

症 例：30歳，男性。

既往歴：喘息，4～5歳時に右下眼瞼睫毛内反の手術。

現病歴：1998年春頃から，右眼角膜に白斑が生じ，近医で点眼加療開始，同年夏頃に角膜白斑が増強したが放置，10月に他院を受診しオフロキサシン，グルタチオン，およびコンドロイチン硫酸点眼を処方されたが，改善はなく，精査加療のため10月19日熊本大学医学部附属病院眼科紹介受診。

初診時所見：視力は右眼0.1(0.15×+0.5D)，左眼1.2(矯正不能)，眼圧(AT)は右眼15mmHg，左眼14mmHg，右眼角膜の瞳孔領下方に2.5×3.5mmの灰白色で表面不整な隆起性病変があり(図1)，下方から血管侵入があり，病変周囲の角膜に点状表層角膜症があった。細胞浸潤はなく，灰白色隆起性病変部には上皮欠損はなかった。軽度の毛様充血，上眼瞼結膜に著明な乳頭増殖があった。右下眼瞼睫毛乱生により一部睫毛が病変部に接触していた。右眼中間透光体および眼底には異常はなかった。また，左眼にも異常はなかった。10月28日，治療および診断目的で右眼角膜隆起性病変の切除を施行した。術後数日で病変切除部の上皮再生が得られた。

## III 方 法

切除標本をヘマトキシリン・エオジン(HE)染色，Congo red染色に加え，アミロイドの原因物質を同定するために免疫組織化学的に検討した。

Congo red染色にはホルマリン固定した標本を使用した。免疫組織化学的検討には切除標本をリン酸緩衝化4%パラフォルムアルデヒドで固定し，パラフィン包埋後，4μmで連続切片を作製した。使用した抗体(抗ヒトラクトフェリン抗体，抗ヒト血清アミロイドP-component抗体，抗ヒトトランスサイレチン抗体，抗ヒト免疫グロブリンL鎖κ抗体，抗免疫グロブリンL鎖λ

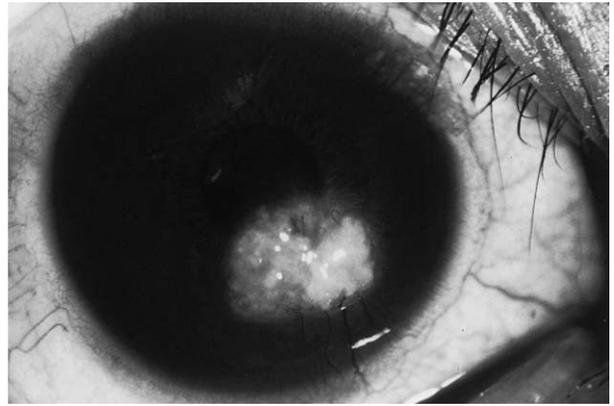


図1 当科初診時の外眼所見。

右眼角膜の瞳孔領下方に灰白色で表面不整な隆起性病変があり，下方から血管侵入があった。

抗体，抗ヒトライソゾーム抗体，抗ヒトAA抗体，抗ヒトケラチン抗体)はSigma Chemical Co.(St Louis, MO, 米国)，Dako Corp.(Carpinteria, CA, 米国)から入手した。抗ラクトフェリン抗体に対する免疫染色はアビニン-ビオチンペルオキシダーゼ法(ABC)法(Dako, Glostrup, デンマーク)で行った。ラビット由来の一次抗体を500倍希釈で使用し，一次抗体反応は4°Cで一晩反応させた。ABC法においてはマウス由来の二次抗体を使用し，二次抗体の非特異的反応はマウス血清をウシ血清アルブミン(BSA)/リン酸緩衝生理食塩水(PBS)に20倍希釈したものをあらかじめ反応させることで抑制した。

Negative controlとしては，家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)，続発性(AA)アミロイドーシス，免疫グロブリン性(AL)アミロイドーシスが確定した症例の組織において，染色がないことで確認した。

## IV 結 果

切除標本は，HE染色で角膜上皮直下に無構造の好酸性沈着物があり，同沈着物はCongo red染色で陽性を示した(図2上)。また，偏光顕微鏡の観察によって帯黄緑色～帯緑色の偏光があった。沈着物はKMnO<sub>4</sub>処理に耐性であったため，non-AA typeのアミロイド沈着が疑われた。沈着アミロイドがnon-AA typeであることから，原発性や家族性のアミロイドーシスも疑い，当院神経内科で全身的検索を行ったが，神経学的所見，血液生化学的所見，十二指腸粘膜生検などのいずれにも異常はなかった。

各種免疫染色を施行した結果，様々なタイプのアミロイドーシスに普遍的に共存蛋白として存在する血清アミロイドP-componentが陽性であった以外に，抗ヒトラクトフェリン抗体に対してのみ陽性所見(図2下)が得られた。

表 1 睫毛乱生続発の角膜アミロイドーシス症例報告のまとめ

報告者	年齢, 性別	病変部所見	アミロイド蛋白同定			
			AA	L 鎖	ラクトフェリン	その他
真島('87)	43, F	膠様滴状変性様	ND	ND	ND	
	47, F	格子状変性様	ND	ND	ND	
気賀沢('96)	48, F	白色隆起病変	(-)	(-)	ND	$\beta_2$ ミクログロブリン(-) ケラチン(-), プレアルブミン(-)
清水('96)	32, F	上皮混濁, 線状混濁	ND	ND	ND	
	41, F	膠様滴状変性様	ND	ND	ND	
西田('99)	56, F	白色隆起病変	(-)	ND	ND	
山田('99)	41, F	白色隆起病変	(-)	ND	ND	
	67, F	白色隆起病変	ND	ND	ND	
阿曾('99)	41, F	膠様滴状変性様	ND	(+)	ND	ケラチン(-), プレアルブミン(-)
	38, F	膠様滴状変性様	ND	(+)	ND	ケラチン(-), プレアルブミン(-)
水村('00)	55, F	白色隆起病変	ND	ND	ND	
本検討('02)	30, M	膠様滴状変性様	(-)	(-)	(+)	ケラチン(-), ライソゾーム(-) トランスサイレチン(-)

AA : amyloid A protein L 鎖 : immunoglobulin light chain F : 女性 M : 男性 ND : not done

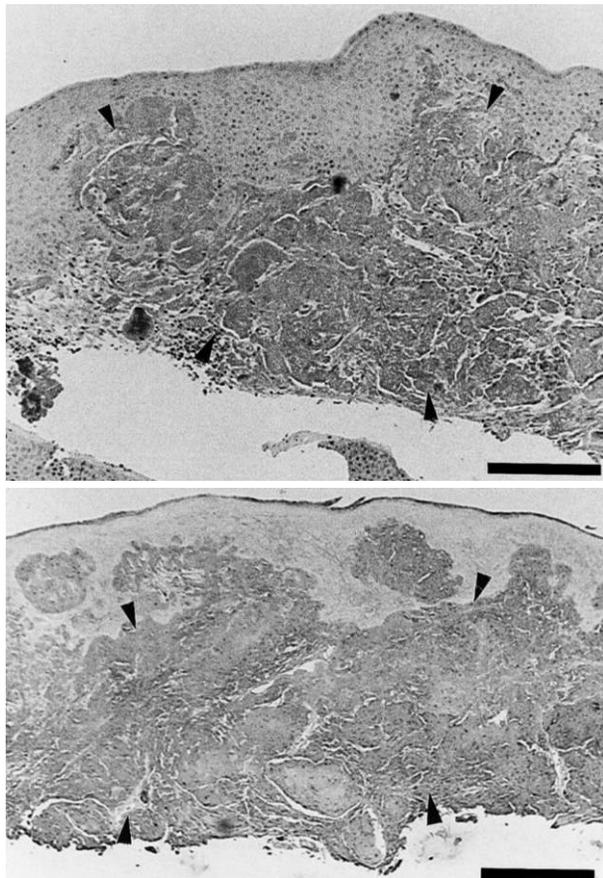


図 2 角膜切除標本の染色所見.

上 : Congo red 染色. Congo red に陽性を示す沈着物が上皮直下にみられる(矢じり). バーは 50  $\mu$ m

下 : 免疫染色. 沈着物は抗ヒトラクトフェリン抗体に対して陽性を示した(矢じり). バーは 50  $\mu$ m

## V 考 按

AA アミロイドーシスには睫毛乱生に続発するものが比較的多いとされ, 現在までに 7 報ほどが報告<sup>3)~9)</sup>されており, 特に女性の症例が多いのが特徴である(表 1).

その中で, 沈着物に免疫グロブリン L 鎖を検出した症例の報告<sup>8)</sup>もあるが, 免疫グロブリン L 鎖がアミロイドの成分としてではなく, 非特異的に沈着している可能性も否定はできない.

今回, 我々は本症例において, 沈着物がラクトフェリンに由来するアミロイドであることを初めて同定した.

本症例において, 角膜のアミロイド沈着物の主要構成成分がラクトフェリンであることが判明したため, 患者およびその家族のラクトフェリン遺伝子の解析を行い, その他の日本人 37 人との比較を行ったが, 変異はあるものの, 日本人の十数%にも同様の変異があったことから, 変異は non-pathologic と判断した<sup>10)</sup>. 次に, ラクトフェリンがアミロイド原性を有し, アミロイド線維生成を生じ得るか否かを *in vitro* において検討した.

その結果, カルボキシルメチル化の修飾を受けたラクトフェリンでは, 生理的な pH の緩衝液中でインキュベーションを行うと生化学的にアミロイドを形成することが判明した<sup>10)</sup>. これを電子顕微鏡で観察すると, 確かにアミロイドが形成されていることも確認された<sup>10)</sup>.

ラクトフェリンは, 母乳中の蛋白の主要蛋白であり, 多核白血球の顆粒内にも存在する. また, 涙腺で産生され涙液の構成成分となる<sup>11)</sup>. ラクトフェリンによるアミロイドーシスの報告としては, 他科領域においては精巣におけるものがあり<sup>12)</sup>, また, 眼科領域でも膠様滴状角膜変性における報告<sup>11)</sup>があり, ラクトフェリンの遺伝子座である第 3 染色体(3q21-q23)遺伝子異常の関与の可

能性を言及しているが、最近、膠様滴状角膜変性の疾患原因遺伝子座は第1染色体上にあることが確定している<sup>13)</sup>。睫毛乱生により生じた角膜病変は、線状また格子状角膜変性様の病変を来した報告<sup>3)5)</sup>もあるが、多くの症例は膠様滴状角膜変性類似の白色隆起性病変を呈し<sup>3)~9)</sup>、今回の症例においても同様の病変が形成されていたが、患者にラクトフェリン遺伝子の異常はなかった。

ラクトフェリンの由来としては、涙液と多核白血球が考えられる。多核白血球の顆粒内に含まれるラクトフェリンが多核白血球の崩壊により沈着を生じる可能性もあるが、他の報告<sup>4)~7)9)</sup>と同様に病変部には組織学的に炎症細胞の浸潤がなかったため考えにくいと思われる。むしろ、Klintworthら<sup>11)</sup>が述べているように涙液に由来すると考えるのが妥当である。

涙液に由来するラクトフェリンが睫毛乱生による上皮障害と再被覆を繰り返す間に、上皮下に沈着し、さらに、慢性的な刺激により化学的修飾を受けアミロイドを形成したと考えられた。

## 文 献

- 1) **Ola Sandgren** : Ocular amyloidosis, with special reference to the hereditary forms with vitreous involvement. *Surv Ophthalmol* 40 : 173—196, 1995.
- 2) **安東由喜雄, 原岡克樹** : アミロイドーシスの診断プロトコル. *Medical Technology* 29 : 794—802, 2001.
- 3) **真島行彦, 明尾 潔, 気賀沢一輝, 秋谷 忍** : 睫毛乱生による角膜アミロイドーシス. *臨眼* 41 : 366—367, 1987.
- 4) **気賀沢一輝, 真島行彦, 尾形徹也, 田代征夫** : 睫毛乱生に続発した角膜アミロイドーシスの病理組織学的検討. *日眼会誌* 100 : 394—400, 1996.
- 5) **清水敬一郎, 谷 瑞子, 野田 徹, 尾山直子, 秦誠一郎, 中村真理子, 他** : 興味ある病型を示した睫毛乱生による続発性角膜アミロイドーシスの2症例. *眼紀* 47 : 1314—1318, 1996.
- 6) **西田進五, 広瀬直文, 秋谷 忍, 井出良浩** : 睫毛乱生に続発したと思われる角膜アミロイドーシスの1例. *眼臨* 93 : 33—36, 1999.
- 7) **山田義久, 北川和子, 野島孝之** : 続発性角膜アミロイドーシスの2症例. *眼紀* 50 : 58—61, 1999.
- 8) **阿曾香子, 若倉雅登** : 睫毛乱生に続発した角膜アミロイドーシス—第1報 凍結切片によるアミロイドL鎖蛋白の検出. *日眼会誌* 103 : 754—760, 1999.
- 9) **水村早織, 増子 徹, 後藤 晋** : 睫毛乱生による角膜アミロイドーシス. *眼臨* 94 : 1337—1340, 2000.
- 10) **Ando Y, Nakamura M, Kai H, Katsuragi S, Terazaki H, Nozawa T, et al.** : A novel localized amyloidosis associated with lactoferrin in the cornea. *Lab Invest* 82 : 757—766, 2002.
- 11) **Klintworth GK, Valnickova Z, Kielar RA, Baratz KH, Campbell RJ, Enghild JJ** : Familial subepithelial corneal amyloidosis—A lactoferrin-related amyloidosis. *IOVS* 38 : 2756—2763, 1997.
- 12) **Tsutsumi Y, Serizawa A, Hori S** : Localized amyloidosis of the seminal vesicle : Identification of lactoferrin immunoreactivity in the amyloid material. *Pathol Int* 46 : 491—497, 1996.
- 13) **Tsujikawa M, Kurahashi H, Tanaka T, Nishida K, Shimomura Y, Tano Y, et al.** : Identification of the gene responsible for gelatinous drop-like corneal dystrophy. *Nature Genet* 21 : 420—423, 1999.