

Mooren's ulcer における免疫組織学的検討 (図8, 表1)

吉田 晴子¹⁾²⁾・千原 悦夫³⁾ (1) 兵庫県立塚口病院
 砂川 光子²⁾⁴⁾ (2) 京都大学医学部眼科学教室
 (3) 宮崎医科大学, 4) 三菱京都病院

Immunohistological study of the conjunctiva of Mooren's Ulcer

Haruko Yoshida¹⁾²⁾, Etsuo Chihara³⁾, Mitsuko Sunagawa²⁾⁴⁾

1) Hyogo Prefectural Tsukaguchi Hospital

2) Dept. of ophthalmol. Kyoto University

3) Miyazaki Medical College

4) Mitsubishi-Kyoto Hospital

要 約

Mooren's ulcer の患者で、周辺結膜除去手術により治癒した2症例の結膜を、PAP法および蛍光抗体法にて染色し、免疫組織学的検討を行った。切除した結膜は、上皮内および、上皮下結合織へのリンパ球や形質細胞の浸潤が認められた。IgGは、上皮基底膜及び上皮下結合織に沈着している所見が認められた。また、IgMは、上皮基底膜部に線状に沈着していた。上皮下に著明に浸潤したリンパ球はオーソミュンモノクローナル抗体(OKT4, OKT8)にて染色され、Tリンパ球が多数存在することが認められた。一方、末梢血リンパ球サブセットもOKT4⁺細胞の割合の増加と、OKT8⁺細胞の低下がみとめられ、全身的に免疫賦活状態にあることが示された。(日眼 91:1176—1179, 1987)

キーワード: Mooren's ulcer, IgG, IgM, リンパ球サブセット

Abstract

The conjunctival tissue of 2 cases of Mooren's ulcer were studied. The histological examination of excised conjunctiva showed plasma cells, lymphocytes and macrophages in the subepithelial connective tissues. IgG and IgM were found along the basement membrane of the conjunctiva and IgG was found in the subepithelial connective tissue. IgM was in the intracellular space of the macrophages and lymphocytes. The infiltrating lymphocytes were also stained with OKT4 and OKT8, showing them to be T lymphocytes. Thus cellular immunity, in addition to humoral immunity, plays an important role in Mooren's ulcer. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91:1176—1179, 1987)

Key words: Mooren's ulcer, IgG, IgM, T cell subsets

I 緒 言

Mooren's ulcer は、難治性の進行性角膜潰瘍であり、その発生機序はまだ明らかではないが、自己免疫の機序に基づくことが唆されている。Brown¹⁾は、病

原因子が結膜にあると考え、潰瘍周辺部の結膜を除去することにより、比較的良好的成績をおさめている。

今回、我々は、周辺部結膜除去手術により治癒した2症例の結膜を、抗ヒトIgG, IgM, IgA, 補体抗体及びオーソミュンモノクローナル抗体を使用して、酵

別刷請求先: 661 兵庫県尼崎市南塚口町6-8-17 兵庫県立塚口病院眼科 吉田 晴子

Reprint requests to: Haruko Yoshida, M.D. Tsukaguchi prefectural Hospital
 6-8-17, Minami-Tsukaguchi-cho, Amagasaki-city, Hyogo 661, Japan

(昭和62年6月20日受付) (Accepted June 20, 1987)

素抗体法及び蛍光抗体法により免疫組織学的検討を行い、興味ある結果を得たので報告する。

II 対象および方法

Mooren's ulcer を認めた 2 症例の結膜を治療の目的で、Brown の療法に準じ、その周辺結膜を半月状に広汎に切除した。切除後は、結膜で覆わずそのまま放置し、いずれも、一年半以上再発をみていない。

上記の切除した結膜の半分は、10%ホルマリンにて固定後、パラフィン包埋切片を作成し、抗ヒト IgG, IgM, IgA, Ig κ 抗体を用いて PAP(peroxidase-anti-peroxidase complex) 法にて染色を行った。他の半分は、即座に凍結し、7 μ の凍結切片を作成後、FITC 標識抗ヒト IgG, IgM, C3抗体を用いて、直接蛍光抗体法を行い、一部は、オーソミュージンモノクローナル抗体 (OKT4, OKT8) を用いて PAP 法にて染色を行った。

1. PAP (peroxidase-anti-peroxidase complex) 法染色

上記にて作成したパラフィン包埋切片を脱パラフィン後、3% H_2O_2 及び正常ヤギ血清にてブロッキングし、ウサギ抗ヒト IgG, IgM, IgA, Ig κ 抗体 (Dako corp, U.S.A)にて一次反応を行なわせ、次に抗ウサギ免疫グロブリンにて2次抗体反応を行わせ、標識抗体 (ペルオキシダーゼ標識ウサギ免疫にて反応後、1% H_2O_2 及び AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) による発色及び Hematoxylin による対比染色を行った。

2. 直接蛍光抗体法

結膜の凍結切片を、ウサギ抗ヒト IgG, IgM, C3抗体 (Dako corp. U.S.A), 及びオーソミュージンモノクローナル抗体 (OKT4, OKT8) (Ortho, U.S.A) を使用して、直接蛍光抗体法を行い、オリンパス蛍光顕微鏡で観察した。

3. 末梢血リンパ球サブセットの測定

末梢静脈血は、ヘパリン加シリンジ採取し、モノクローナル抗体と反応する細胞の検出は、直接蛍光抗体法にて行った。検体を、至適濃度に希釈し、FITC 標識モノクローナル抗体 (OKT3, OKT4, OKT8) を加え、4℃で30分間放置後、塩化アンモニウムを加えて、赤血球を破壊し、このサンプルを、Ortho Spectrum III Laser Flow Cytometry System にて測定し、各サブセットをリンパ球に対する割合で求めた。

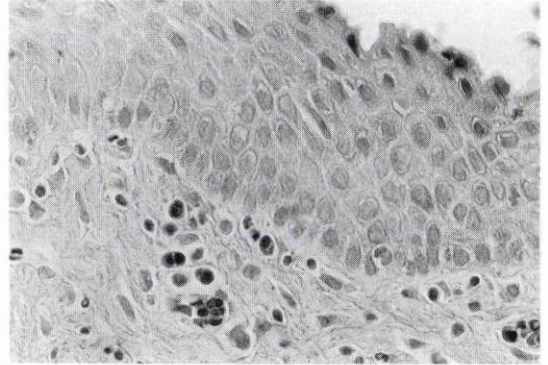


図1 切除した結膜の HE 染色所見。上皮は、肥厚し、上皮組織内に、リンパ球の浸潤を認める。また、上皮下結合織内にも、リンパ球, plasma cell, macrophage の浸潤を認める。

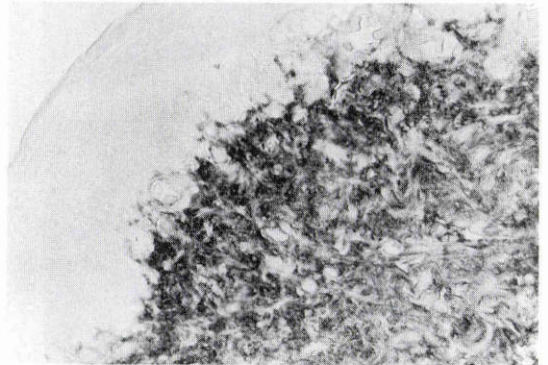


図2 IgG の沈着。(PAP 法)。上皮下結合織に、著明に IgG が沈着している所見が認められる。

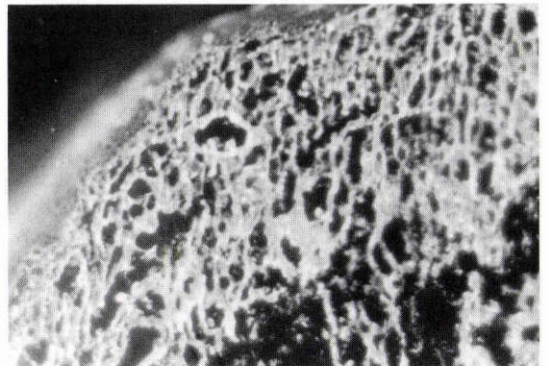


図3 IgG の沈着。(蛍光抗体直接法)。上皮基底膜部および、上皮下結合織に IgG の沈着を認め PAP 法による所見を裏づけている。

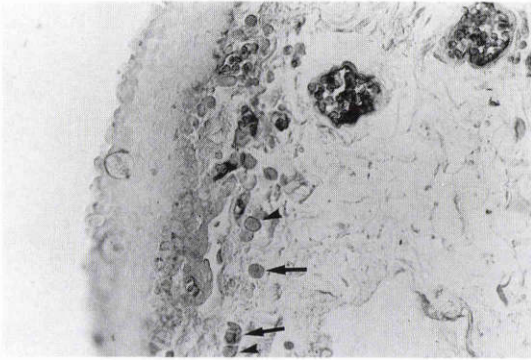


図4 IgM. (PAP法). macrophage (→)及びリンパ球 (▲)の胞体内にIgMの沈着を認める.

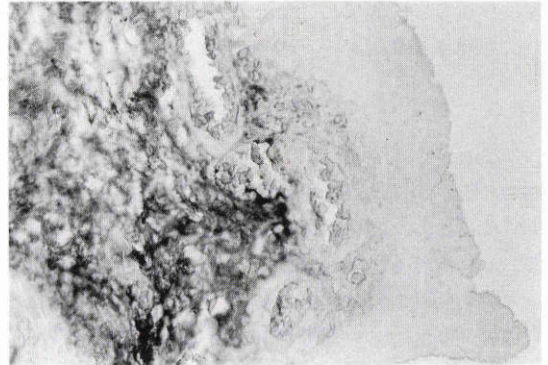


図6 Igκ(PAP法). IgGと同様に, 上皮下結合織に沈着している所見が認められる.



図5 IgMの沈着. (蛍光抗体直接法), 上皮基底膜部にIgMが線状に沈着している所見を認める.

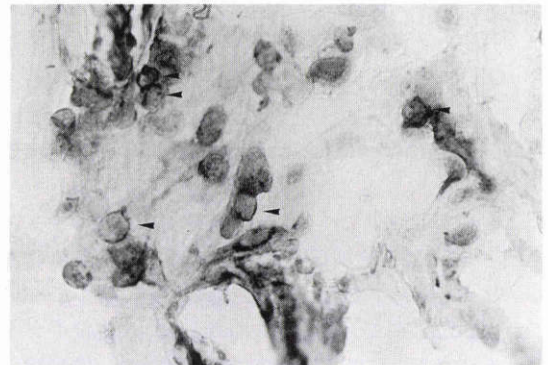


図7 OMT4によるPAP法染色. 多数のリンパ球がOMT4により染色されている.

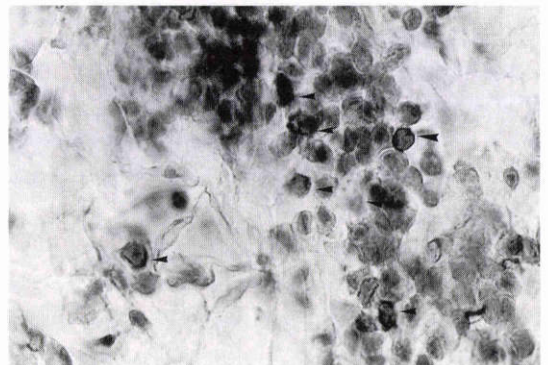


図8 OMT8によるPAP法染色. 多数のリンパ球がOMT8により染色されている.

III 結 果

1. 結膜切片の光顕組織像 (図1)

図1では, 結膜上皮が5~6層に肥厚し, 正常例に比し, 個々の細胞も, hypertrophyを呈していた, また, 結膜上皮内へのリンパ球浸潤を認め, また, 上皮下結合織には, 著明なリンパ球浸潤と, macrophage, plasma cellの浸潤を認めた.

2. PAP法及び蛍光抗体法所見

IgGは, PAP法にて, 上皮下結合織および上皮基底膜部に著明に沈着している所見が得られた(図2). こ

の所見は, 直接蛍光抗体法にも見いだされ(図3), PAP法における発色が, 内在性ペルオキシダーゼによるものではないことを示している. macrophage, lymphocyte胞体内のIgGは, 背景蛍光が強いため, 不

表1 Mooren's ulcer 患者におけるリンパ球サブセット

| | OKT 3 ⁺ | OKT 4 ⁺ | OKT 8 ⁺ | OKT 4 / OKT 8 |
|-------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------|
| 症例 1 | 64.0 | 47.7↑ | 22.7↓ | 2.10↑ |
| 症例 2 | 60.0 | 49.1↑ | 15.7↓ | 3.13↑ |
| 正常対照人 | (63—75) | (31—45) | (23—35) | (0.88—1.98) |

明である。

IgM は、上皮下結合織に著明な沈着はなく、上皮基底部に線状の沈着が認められた(図5)。また、macrophage, lymphocyte の胞体内にも IgM の存在が認められた(図4)。

IgA は、特に染色されなかった。Igκ (light chain) も IgG のパターンと同様、上皮下結合織に多く沈着している所見が認められた。

また、直接蛍光抗体法で、C3の沈着は認められなかった。

さらに、OKT4, OKT8による染色を行ったところ、上皮下結合織に多数浸潤したリンパ球は、OKT4, OKT8にて染色される細胞が多く認められた。

3. リンパ球サブセット

2症例のリンパ球サブセットは、表1に示すごとく、両者共、正常対照人に比し、OKT4⁺細胞(inducer helper T lymphocyte)の割合の上昇と、OKT8⁺細胞(suppressor-cytotoxic T lymphocyte)の割合の低下がみとめられ、OKT4/OKT8比の上昇がみとめられた。

IV 考 按

Mooren's ulcer の発生機序及び治療法について、種々の免疫学的、組織学的研究がなされてきた。Brown¹⁾は、潰瘍隣接結膜に collagenase が存在すると報告し、隣接結膜除去手術を試みた。杜ら²⁾は、周辺結膜除去術に、表層角膜移植術を施行し、好成績をあげている。組織に、plasmacell, lymphocyte の浸潤³⁾⁴⁾や、Immunoglobulin の沈着⁵⁾、immune complex の増加⁶⁾も報告されており、この疾患に humonal immunity のみならず、cellular immunity が関与していることが示唆されている。

今回、我々の実験では、両症例共、結膜下組織にリンパ球の浸潤並びに plasma cell, macrophage の浸潤がみとめられ、macrophage の胞体内に IgM の沈着の認められることは、macrophage が immune complex

を貪食している所見とも考えられる。

C3の沈着は、今回認められなかったが、Brownら⁵⁾は、C3の沈着も報告しており、今回、補体は認められなかったが、補体が病期の活動期のみ存在していることも考えられる。

また、結膜下に浸潤したリンパ球が、OKT4, OKT8にて多く染色され、Tリンパ球が多く認められたことは、興味深い所見である。リンパ球は、抗原によって感作され、T lymphocyte が活性化されることにより、リンホカイン等、免疫細胞間伝達物質を産生し、さらに、Tリンパ球、Bリンパ球の活性化が増幅され、旺盛な免疫反応が起こることも考えられる。

末梢血では、OKT4⁺細胞の割合の上昇と、OKT8⁺細胞の割合の低下がおこっていることは、suppressor Tリンパ球の低下と、inducer Tリンパ球の増加を示し、全体として免疫反応の過剰な状態がひきおこされていることがうかがわれる。そして、Mooren's ulcer において、humonal immunity と、cellular immunity の両者が関与していることが示唆される。

稿を終るにあたり、御校閲を賜りました、京都大学医学部眼科学教室、本田孔士教授に深謝致します。

また、御協力いただきました、兵庫県立塚口病院病理部、武田善樹先生、奥田久子氏に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Brown SI: Mooren's ulcer histopathology and proteolytic enzymes of adjunct conjunctiva. Brit J Ophthalmol 59: 670—674, 1975.
- 2) 杜念祖, 陳家祺, 袁向明他: 表層角膜移植による垂食性角膜潰瘍の治療. 日眼 83: 1855—1860, 1979.
- 3) Foster CS, Kenyon KR, Greiner J, et al: The immunopathology of Mooren's ulcer. Am J Ophthalmol 88: 149—159, 1979.
- 4) Chihara E, Nishi R, Asayama K, et al: Treatment of Mooren's ulcer by conjunctival excision. Ophthalmologica Basel 179: 258—264, 1979.
- 5) Brown SI, Mondino BJ, Rabin BS: Autoimmune phenomenon in Mooren's ulcer. Am J Ophthalmol 82: 835—840, 1976.
- 6) Berkowitz PR: Presence of circulating immune complex in patients with peripheral corneal diseases. Arch Ophthalmol 101: 242—245, 1983.

(第91回日眼総会原著)