

細菌内毒素による角膜輪状膿瘍の形成機序について (図4, 表4)

小野寺 毅 (岩手医科大学細菌学講座・眼科学講座)

The Mechanism of Corneal Ring Formation
Caused by Endotoxin

Tsuyoshi Onodera

*Department of Bacteriology, Department of Ophthalmology,
School of Medicine, Iwate Medical University*

要 約

グラム陰性菌角膜感染症の際に認められる角膜輪状膿瘍の形成機序について検討した。大腸菌内毒素, サルモネラ菌の Re 型内毒素と lipid A の3種の内毒素および cancer promoter である phorbol myristate acetate (PMA)のいずれの角膜実質内接種でも角膜輪状膿瘍が形成された。一方, これらの標品による補体活性化能は, 3種の内毒素では著明であったが, PMA では認められなかった。このことより, 角膜輪状膿瘍の形成に際して補体は主要な因子ではないことが示唆された。また, 内毒素による角膜輪状膿瘍の形成は, アラキドン酸代謝のホスホリパーゼ A₂抑制剤であるステロイド剤の結膜下投与で抑制されたが, シクロオキシゲナーゼ抑制剤であるアスピリンの静脈内投与では増強した。以上の結果より, 内毒素による角膜輪状膿瘍の形成にアラキドン酸のリポキシゲナーゼ代謝産物が関与していることが示唆された。(日眼 91:465—472, 1987)

キーワード: 角膜輪状膿瘍, 細菌内毒素, リポキシゲナーゼ代謝産物, lipid A, phorbol myristate acetate

Abstract

An experimental study was performed to clarify the mechanism of corneal ring formation by bacterial endotoxin. Keratitis with corneal ring, produced by intracorneal injection of as little as 1.0ng of *E. coli* endotoxin, was also formed by intracorneal injection of Re-endotoxin and free lipid A (a component of the endotoxin molecule) of *Salmonella minnesota*. This indicated that the active component of the endotoxin molecule, concerning the induction of corneal ring, is the lipid A moiety. *E. coli* endotoxin produced the most prominent corneal ring, which was followed in activity by Re-endotoxin and lipid A. Phorbol myristate acetate (PMA), a cancer promoter, also induced keratitis with corneal ring. Re-endotoxin very markedly activated complement, and this level of activity was followed in decreasing order by those of lipid A than *E. coli* endotoxin, while PMA did not activate complement. This demonstrated that complement was not a major factor as to the mechanism of corneal ring formation. Subconjunctival injection of dexamethasone inhibited corneal ring formation, while intravenous injection of aspirin exacerbated the corneal ring. This also suggests that the lipoxygenase-reaction products of arachidonic acid is related to the corneal ring formation by endotoxin. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 91: 465—472, 1987)

Key words: corneal ring, bacterial endotoxin, lipoxygenase-reaction products lipid A, phorbol myristate acetate

別刷請求先: 020 盛岡市内丸19-1 岩手医科大学眼科学教室 小野寺 毅

Reprint requests to: Tsuyoshi Onodera, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Iwate Med. Univ., 19-1 Uchimarui, Morioka 020, Japan

(昭和61年12月8日受付) (Accepted December 8, 1986.)

I 緒 言

角膜輪状膿瘍はグラム陰性菌角膜感染症に特徴的な所見とされている。既報¹⁾において著者らは、この角膜輪状膿瘍に注目し、内毒素の家兎角膜内接種を行った結果、これによって角膜輪状膿瘍が発症すること、投与内毒素量と角膜輪状膿瘍形成の強さの程度との間に量依存性が認められたことから、角膜輪状膿瘍の形成に内毒素が関与していることを確認した。しかし、内毒素がいかなる機序で角膜輪状膿瘍を起こすかについては、さらに究明すべき問題として残されていた。

内毒素はすべてのグラム陰性菌に共通な細胞壁成分であり、その外膜部分に存在している。この内毒素は図1に示すように、親水性に富むO抗原特異多糖およびRコア多糖と疎水性に富むlipid Aの3部分で構成されている。一般に、自然界に存在している菌はこの3部分で構成された内毒素を持つS型菌であるが、このS型菌を培地で培養するとO抗原特異多糖部分を欠損する変異菌であるR型菌が出現する。R型菌はその変異の程度によりRaからRe型菌までに分類されている。また、内毒素の重要な生物学的特徴は、少量できわめて多彩な生体反応を誘発することであり、その病理学的または生物学的活性はlipid A部分によることが明らかにされている²⁾。

そこで本研究では、S型菌内毒素、Re型菌内毒素、lipid Aおよびcancer promoterとして知られているphorbol myristate acetateのそれぞれを家兎角膜に接種することによって、内毒素による角膜輪状膿瘍の

形成機序について検討した。また、これらの標品の補体活性化能を調べることで、角膜輪状膿瘍に対する補体の関与の有無についても検討した。

II 実験方法

1. 実験動物

体重2.6~4.0kgの、角膜に病変を認めない白色雄性家兎64羽を実験に用いた。

2. 角膜内接種溶液とその調製

(1) S型菌であるE. coli O111:B4の内毒素(Difco社)：生理食塩水を加えて音波処理し、2.5mg/ml(100 μ g/40 μ l)の濃度に調製したのち、さらに10倍希釈法によって0.25 μ g/ml(1ng/40 μ l)までの濃度の内毒素溶液を作製した。

(2) Salmonella minnesotaのRe型菌内毒素：(1)と同様の方法で処理し、0.25mg/ml(10 μ g/40 μ l)の濃度とした。

(3) Salmonella minnesotaのlipid A：triethylamineを加え、よく浸潤させた後、(1)と同様の方法で処理し、0.25mg/mlの濃度とした。

(4) Phorbol myristate acetate(PMA)：100% ethanolで溶解し、これを生理食塩水で希釈して0.25mg/mlおよび、0.025mg/ml(1 μ g/40 μ l)の濃度とした。

(5) (1)~(4)についての対照溶液としては、それぞれに用いた溶解・希釈液のみをそれぞれ同様の方法で調製して用いた。

3. 接種方法

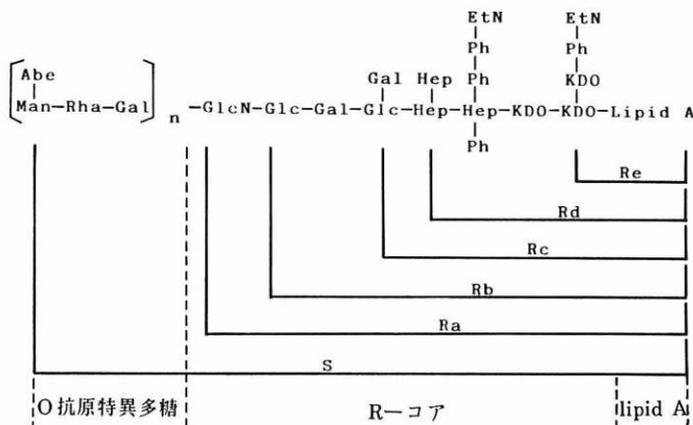


図1 内毒素の構造。KDO：ケトデオキシオクトン酸，Ph：リン酸，EtN：エタノールアミン，Hep：ヘプトース，Glc：グルコース，Gal：ガラクトース，GlcN：グルコサミン，Rha：ラムノース，Man：マンノース，Abe：アベコース。

家兎角膜をベノキシール®で点眼麻酔後、前項の(1)～(4)のいずれかの溶液40 μ lを27ゲージ注射針を取り付けた100 μ lのマイクロシリンジ(Kloehn社製、TLT型)で家兎の左眼の角膜中央部実質内に接種した。対照としては、同一家兎の右眼にそれぞれの対照溶液40 μ lを同様に注入した。

4. 病変の観察と角膜摘出

病変の記録は、連日、肉眼的に行った。角膜の摘出は、形成された角膜輪状膿瘍が最大になったと思われる時点、あるいは侵入血管由来の白血球の混入をさけるため角膜周辺部に血管が侵入し始める直前とした。角膜摘出の際には、家兎を脱血致死せしめ、角膜のみを摘出し、これを-80℃冷凍保存した。

5. Myeloperoxidase (MPO) 活性の測定

既報¹⁾において著者は、主に多核白血球(PMN)で構成されている角膜輪状膿瘍を、PMN内に存在する殺菌酵素であるMPO活性を測定することによって定量が可能であることを確認しているため、今回も角膜輪状膿瘍の強さの程度の評価にMPO活性を用いた。

(1) MPOの抽出法

家兎角膜の1眼を1検体として自然融解後、細片とし、これにpotassium phosphate buffer (50mM, pH 6.0)で溶解したhexadecyltrimethylammonium bromide 0.5%溶液を1ml加え、氷水中で10分間ホモジナイザーを用いて懸濁化した。この懸濁物を氷水中で20秒間音波処理した後、凍結融解を3度繰り返し、再度20秒間音波処理を加え、40,000Gで15～20分間遠心分離した。上清は氷水中に保存し、沈渣に同様の操作を2度繰り返し、それぞれで得られた上清をプールし、最終量が3mlになるようにbufferを加えてMPO抽出液とした。

(2) MPO活性の測定

MPO抽出液0.15mlにO-dianisidine dihydrochloride (16.7mg/100ml)と0.0005%hydrogen peroxideを含むpotassium phosphate buffer 1.35mlを加え、25℃で90分間反応させた。この反応液を分光光度計にて吸光度460nmで測定し、その値をMPO活性とした。

6. 補体活性化能の測定

前項2の各溶液の補体活性化能の測定はInada³⁾の方法に従った。それぞれの被検溶液を5mg/ml (25 μ g/5 μ l)から0.16mg/ml (0.8 μ g/5 μ l)までゼラチンペロナル緩衝液(以下GVB²⁺)で2段階希釈し、その5 μ lに、補体として用いたモルモット血清7 μ lを加え、さら

にGVB²⁺ 18 μ lを加えて最終量を30 μ lとし、37℃で60分間反応させた。これらの反応液7 μ lに、溶血素で感作したヒツジ赤血球を1.5ml加えて、37℃で60分間反応させた。この反応液を3,000rpm、5分間遠心分離し、上清の溶血の程度を分光光度計を用いて吸光度541nmで測定した。被検溶液の補体活性化能は、被検溶液を含む反応液の吸光度を、被検溶液を含まない補体対照のみの反応液の吸光度に対する比として計算し、補体の%消費量として表現した。

7. ステロイド剤による処理

内毒素を接種した角膜に対するステロイド剤の影響をみるために、dexamethasone 3.3mg/mlを含有するdexamethasone sodium phosphate (デカドロン注射液®)を生理食塩水で2倍希釈し、その0.1ml (dexamethasone 165 μ g)を内毒素接種の前日より毎日1回、9日間3羽の家兎の両眼の結膜下に投与した。対照としては、生理食塩水0.1mlずつを3羽の両眼に結膜下注射した。内毒素としてはE. coli内毒素10 μ gずつを、両眼角膜に注入した。

8. アスピリンによる処理

内毒素を接種した角膜に対するアスピリンの影響を見るために、アスピリン497mg含有するDL-lysine acetylsalicylate (Venopirin®)を蒸留水に溶解し、アスピリン量として50mg/kgを、内毒素を投与する前日より毎日1回6日間5羽の家兎に静脈内注射した。対照としては、生理食塩水2ml/kgを5羽に注入した。内毒素としてはE. coli内毒素10 μ gを両眼角膜に接種した。内毒素投与後5日目に家兎を致死せしめ、角膜を摘出し、そのMPO活性を測定した。

III 結 果

1. 角膜輪状膿瘍の形成

(1) S型E. coli内毒素の接種

内毒素あるいはその対照溶液を投与した際の角膜輪状膿瘍の形成率を表1に示した。角膜当たり100, 10, 1.0 μ gあるいは100ngを投与した場合にはそれぞれ全例(100%)に、また、10および1.0ngではそれぞれ7眼中5眼(71%)および4眼中2眼(50%)に角膜輪状膿瘍の形成が認められた。この形成率および形成の強さの程度は、内毒素量が多いほど高かった。一方、対照では、全経過を通じて角膜輪状膿瘍の形成はなかった。

これらの家兎眼のS型E. coli内毒素接種後の肉眼的観察による経過については、既報¹⁾に述べているが、

表1 E. coli 内毒素による角膜輪状膿瘍の形成率.

Dose of endotoxin	No. of rabbits	No. of eyes with corneal ring (%)
control	8	0/8 (0)
100 μ g		8/8 (100)
control	8	0/8 (0)
10 μ g		8/8 (100)
control	5	0/5 (0)
1.0 μ g		5/5 (100)
control	6	0/6 (0)
100 ng		6/6 (100)
control	7	0/7 (0)
10 ng		5/7 (71)
control	4	0/4 (0)
1.0 ng		2/4 (50)

その概略は以下の如くである。100 μ gの投与量では、接種24時間後には軽度の眼瞼の発赤・腫脹、軽度の眼結膜充血、軽度の毛様充血、虹彩の充血および縮瞳が発生したが、角膜は透明であった。2~4日後には眼球結膜、虹彩の病変が増強して、眼脂が出現し、角膜では周辺部の混濁浮腫および角膜輪状膿瘍の形成が認められ始めた。5~6日後には、眼瞼、眼球結膜の病変がさらに増強し、球結膜が浮腫状となり、眼脂が増量した。角膜では混濁浮腫が全体におよび、角膜輪状膿瘍は全経過を通じてもっとも明瞭となった。10 μ gの投与量では、100 μ gの投与の時とはほぼ同じ経過を呈したが、病変の程度はやや軽度であった。1.0 μ gあるいは100ngの投与量では互いに類似した経過を示した。病変の発現は、100, 10 μ g接種よりも約1日遅れ、内毒素注入2日後に、軽度の毛様充血と軽度の眼結膜および虹彩の充血がみられた。3~4日後には眼瞼が発赤・腫脹して眼球結膜、虹彩の病変は増強し、角膜輪状膿瘍が形成され始めた。その形成の強さのpeakは、100, 10 μ g投与時と同様に5~6日後であった。10あるいは1.0ngの投与量では、100, 10 μ g接種よりも約2日遅れて病変が発現し、その程度も、1.0 μ g, 100ngよりさらに軽微であった。角膜病変は内毒素接種3~4日後に発生し、角膜輪状膿瘍は4~5日後に形成され始め、その強さのpeakは5~6日後で、他の投与量の場合と同じ時期であった。

(2) Re型菌内毒素およびlipid Aの接種

Re型菌内毒素あるいはlipid Aの10 μ gを接種した際の角膜輪状膿瘍の形成率を表2に示した。Re型菌内毒素、lipid Aはいずれも5眼中5眼(100%)に角膜輪状膿瘍を形成した。一方、対照眼では角膜輪状膿瘍は形成されなかった。

Re型菌内毒素、lipid A接種による家兎眼の経過は、

表2 Re型菌内毒素、lipid Aによる角膜輪状膿瘍の形成率.

Endotoxin preparation	No. of rabbits	No. of eyes with corneal rings (%)
control	5	0/5 (0)
Re		5/5 (100)
control	5	0/5 (0)
Lipid A		5/5 (100)

表3 Phorbol myristate acetateによる角膜輪状膿瘍の形成率.

Dose of PMA	No. of rabbits	No. of eyes with corneal rings (%)
control	5	0/5 (0)
10 μ g		5/5 (100)
control	5	0/5 (0)
1.0 μ g		5/5 (100)

S型E. coli内毒素10 μ gの場合と同様であった。

上記の内毒素グループの中で、角膜輪状膿瘍形成の程度はS型E. coli内毒素、Re型菌内毒素、lipid Aの順であった。

(3) Phorbol myristate acetate (PMA)の接種

PMAの10あるいは1.0 μ gを接種した際の角膜輪状膿瘍の形成率を表3に示した。いずれの投与量においても、5眼中5眼(100%)に角膜輪状膿瘍を形成した。対照では角膜輪状膿瘍は形成されなかった。

PMAの10あるいは1.0 μ gの接種では、ともに類似した病変の経過を呈したが、1.0 μ gにおいて軽度であった。その経過は、内毒素の場合とはほぼ同様であったが、経過が早い点で異っていた。すなわち、PMA接種24時間後には、軽度の眼瞼腫脹、球結膜充血、虹彩の充血、眼脂およびPMA投与部の角膜の混濁が出現した。2日後には、眼瞼、眼球結膜、虹彩の病変が増強し、角膜では輪状膿瘍の形成が認められ始めたが、混濁は不明瞭となった。3~4日後には、角膜輪状膿瘍はより明瞭となり最大の反応を呈した。

2. Myeloperoxidase (MPO) 活性

100, 10, 1.0 μ g, 100, 10, 1.0ngのS型E. coli内毒素をあるいは対照溶液を投与した角膜のMPO活性を図2に示した。それぞれ0.37 \pm 0.20(平均 \pm 標準偏差)(対照0.02 \pm 0.01), 0.33 \pm 0.13(対照0.03 \pm 0.04), 0.21 \pm 0.15(対照0.01 \pm 0.01), 0.16 \pm 0.12(対照0.02 \pm 0.01), 0.16 \pm 0.10(対照0.03 \pm 0.05), 0.09(対照0.01)であり、きわめて良い量依存性が得られた。

3. 補体活性化能

S型E. coli内毒素、Re型菌内毒素、lipid A, PMAの補体活性化能は図3に示したように、Re型菌内毒素

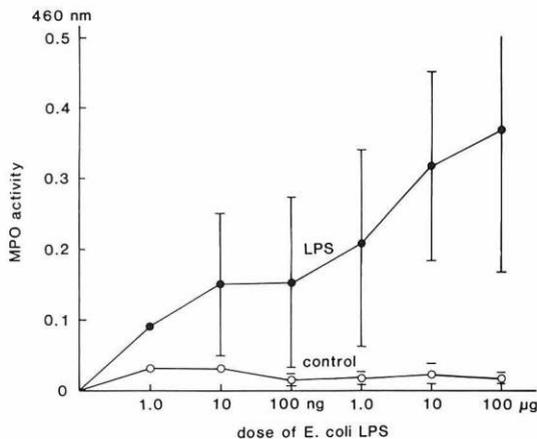


図2 E. coli内毒素による角膜輪状膿瘍の myeloperoxidase (MPO) 活性. LPS: 内毒素, control: 生理食塩水.

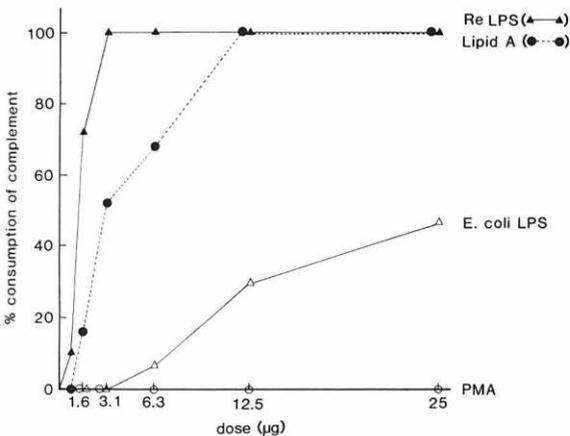


図3 E. coli内毒素, Re型菌内毒素, lipid A, PMAによる補体活性化能.

がもっとも高く、ついで、lipid A, E. coli内毒素の順であった。PMAは補体を活性化しなかった。

4. ステロイド剤の効果

角膜輪状膿瘍に対するステロイド剤の効果を検討し、表4に示した。dexamethasoneを投与した場合には、角膜輪状膿瘍の形成は認められなかった。また、瞼球結膜、虹彩の充血・腫脹などの炎症症状も示さなかった。生理食塩水を結膜下投与した対照ではいずれも角膜輪状膿瘍の形成をみた。

5. アスピリンの効果

アスピリンを静脈内注射した家兎および対照の家兎いずれでも、すべてに角膜輪状膿瘍が形成された。ま

表4 角膜輪状膿瘍形成に対するステロイド剤の抑制効果.

subconjunctival injection	corneal injection	No. of eyes with corneal rings (%)
dexamethasone	E.coli LPS	0/6 (0)
saline	E.coli LPS	6/6 (100)

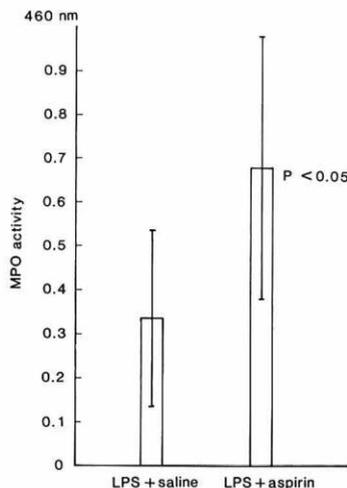


図4 角膜輪状膿瘍のMPO活性に対するアスピリンの増強効果.

た、角膜輪状膿瘍形成の強さの程度は、アスピリンを投与した場合の方が、対照よりも明らかに高かった。アスピリン投与角膜のMPO活性は図4に示したように、 0.68 ± 0.29 (対照 0.34 ± 0.20)であり、アスピリン投与眼で有意に高かった。

IV 考 按

緑膿菌や大腸菌などのグラム陰性菌による角膜潰瘍の際に観察される角膜輪状膿瘍の発生機構については、実験的あるいは臨床的に検討されてはいる^{4)~7)}ものの、いまだその本体は明確にされていない。

Mondinoら⁵⁾は、緑膿菌の生菌、あるいは緑膿菌、大腸菌の死菌、さらにはこれらの菌の内毒素の家兎角膜実質内接種によって、いずれの場合も角膜輪状膿瘍が形成されたが、黄色ぶどう球菌の死菌や Freund's adjuvantの角膜接種では角膜輪状膿瘍の形成がなかったことより、角膜輪状膿瘍の形成には内毒素が関与していると述べた。

一方、既報¹⁾において著者らは $0.01 \mu\text{g}$ の微量の大腸菌内毒素の角膜実質内投与で角膜輪状膿瘍が形成され

ること、接種内毒素量と角膜輪状膿瘍形成の強さの程度との間に量依存性が認められたことより、内毒素によって角膜輪状膿瘍が形成されることを確認した。

今回の実験では、S型菌である大腸菌の内毒素を1.0 ngという微量で角膜接種したにもかかわらず、50%に角膜輪状膿瘍が形成された。このことは、角膜が内毒素に対して非常に高い感受性を持つことを示している。また、角膜輪状膿瘍の形成率は、投与内毒素量の1.0, 10, 100ng以上ではそれぞれ50%, 71%, 100%であり、内毒素量と形成率の間に量依存性が認められた。さらに、角膜輪状膿瘍を定量化したMPO活性においても、内毒素量の増加に伴って活性が高くなり、内毒素量と角膜輪状膿瘍形成の強さの程度との間にも量依存性が認められた。これらの結果より、内毒素によって角膜輪状膿瘍が形成されることを再度確認した。

内毒素は発熱作用、致死作用、骨髄壊死作用など生体にとって障害的反応と、抗原特異的ならびに非特異的に生体の防御機構を強化するなどの防御的反応とを合わせて持ち⁸⁾⁹⁾、しかも内毒素は少量できわめて多彩な生体反応を誘発する。このような内毒素の病理学的または生理学的活性はそのlipid A部分によることがLüderitzら²⁾によって明らかにされた。また、Howesら¹⁰⁾は、大腸菌から多糖部分を多く含む内毒素とlipid Aを多く含む内毒素とを抽出し、それらを家兎に静脈内投与した結果、後者の方が約200倍以上も血管透過性を亢進させたこと、さらにSalmonella minnesotaのRe型菌内毒素の接種でも、大腸菌のlipid Aを多く含む内毒素を投与した時と同様の結果が得られたことから、内毒素に対する眼反応はlipid A部分が最も重要であることを明らかにしている。

本実験において、著者はSalmonella minnesotaのRe型菌内毒素あるいはlipid Aを角膜実質内に投与した結果、両者ともにS型菌内毒素接種と同様の角膜輪状膿瘍が形成されることを観察した。これらの結果より、Mondinoら⁵⁾や著者ら¹¹⁾が報告した内毒素による角膜輪状膿瘍の形成は、内毒素のlipid A部分によって成されることが示唆された。このことは、前述したLüderitzら²⁾やHowesら¹⁰⁾の内毒素による生物反応はlipid Aに担われるとの見解に一致するものである。

PMAについてChusidら¹¹⁾は、角膜に炎症を引き起こす様々な物質の研究の中で、cancer promoterであるPMAはモルモット角膜内に注入することによって、角膜輪状膿瘍の形成を伴う著明な炎症反応を惹

起することを報告した。著者もPMAの家兎角膜内接種によって、Chusidら¹¹⁾がモルモットで観察したと同様の角膜輪状膿瘍を伴う角膜炎の発症をみた。

内毒素による角膜輪状膿瘍の形成機序について、Mondinoら^{5)~7)}は死菌による角膜輪状膿瘍および臨床例での角膜輪状膿瘍に対して蛍光抗体法で研究し、角膜輪状膿瘍にはproperdinとC₃が存在したが、fibrinogenや免疫グロブリンはみられなかったことより、内毒素がproperdinを介してalternate pathwayを活性化し、これによって賦活化されたC_{5a}のような補体成分が、その遊走作用によって多核白血球などの細胞を角膜へ集積した結果、角膜輪状膿瘍が形成されるとした。今回の研究では、角膜輪状膿瘍はS型菌である大腸菌内毒素、Re型菌内毒素、lipid Aのいずれでも形成され、その強さの程度はS型菌内毒素で最も強く、ついでRe型菌内毒素、lipid Aの順であった。一方、補体活性化能については、これらの3種の細菌細胞壁成分はいずれも補体を活性化したが、その活性化の程度はRe型菌内毒素が最も強く、ついでlipid A、S型菌内毒素の順であった。さらに注目すべきこととして、PMAは角膜輪状膿瘍を形成したが、補体を活性化しなかった。このように、角膜輪状膿瘍の形成と補体の活性化との間に相関がみられなかったことより、角膜輪状膿瘍の形成に際して補体は主要な役割を持たないことが示唆され、Mondinoら^{5)~7)}の見解とは異なる結果が得られた。Clevelandら¹²⁾は、角膜輪状膿瘍に関してではないが、緑膿菌によって起こるマウス角膜感染症において、正常な補体を持つ系のマウスとC₆の欠損した系のマウスとでは、緑膿菌によって起こる角膜感染症に差がなかったことから、C₆は緑膿菌に対する角膜の反応にはほとんど役割をはたしていないと報告している。この結果は、内毒素による角膜輪状膿瘍形成に際して補体は重要ではないとした著者の見解と類似したものである。

今回の実験で、ステロイド剤は内毒素による角膜炎の発症を抑え、また角膜輪状膿瘍の形成をも抑制することが確認された。熊谷¹³⁾は、元来、植物病原菌として知られていたグラム陰性桿菌のErwinia herbicolaの死菌接種によっても、程度は弱いが生菌と同様の定型的な病変が発現し、また、その病変はステロイド剤の結膜下投与で緩和されたと報告した。この結果は、グラム陰性菌の死菌あるいは内毒素が惹起する角膜炎も結膜下投与したステロイド剤が抑制するという点で、著者の実験結果と一致するものであった。

ところで、近年ステロイド剤のアラキドン酸代謝経路の抑制作用が注目されている。すなわち、細胞膜のリン脂質をアラキドン酸に転換する酵素であるホスホリパーゼ A₂ の阻害蛋白をステロイドが誘導合成することによって、アラキドン酸のシクロオキシゲナーゼおよびリポキシゲナーゼの両代謝経路を遮断する働きである¹⁴⁾¹⁵⁾。一方、内毒素は、これらのアラキドン酸代謝経路を刺激することが知られている¹⁶⁾¹⁷⁾。また、内毒素による角膜炎ではないが、Bazan ら¹⁸⁾は家兎角膜に全層にわたる冷凍障害を加えることで角膜炎を発症せしめ、その5日後に角膜を摘出し、各層におけるアラキドン酸代謝物の合成について調べた結果、いずれの相においてもシクロオキシゲナーゼおよびリポキシゲナーゼ代謝産物の合成が認められたと報告した。このような点から考えると、内毒素によって起こる角膜輪状膿瘍を伴う角膜炎に、これらのアラキドン酸代謝物が関与している可能性が推察された。そこで、内毒素による角膜輪状膿瘍に及ぼすアスピリンの影響について調べたが、アスピリンは角膜輪状膿瘍の形成を抑制せず、むしろ増強させた。近年、アスピリンはアラキドン酸のシクロオキシゲナーゼ経路を抑制することでプロスタグランジンの合成を低下させ、その反面、リポキシゲナーゼ経路による産物である HETE やロイコトリエンなどを増加させることが明らかになっている¹⁹⁾²⁰⁾。また、これらの HETE やロイコトリエン、特にロイコトリエン B₄ は補体の C_{5a} に匹敵するほどの強い白血球遊走作用を持つことが知られている²¹⁾²²⁾。以上の点より、角膜輪状膿瘍がアスピリンの投与で増強したことは、その形成にアラキドン酸のリポキシゲナーゼ経路の代謝産物が関与していることを示唆している。したがって、角膜に接種された内毒素がアラキドン酸の代謝経路を活性化し、この過程で産生される白血球遊走作用を持つリポキシゲナーゼ代謝産物、特にロイコトリエン B₄ などが白血球を角膜内に集積することにより角膜輪状膿瘍が形成されると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただきました岩手医科大学医学部細菌学講座吉田昌男教授、ならびに眼科学講座田澤 豊教授に深く感謝いたします。

本論文の要旨は第90回日本眼科学会にて口演した。

文 献

- 1) 小野寺毅, 熊谷俊一, 渡辺敏明, 田澤 豊, 平田陸正, 吉田昌男: 角膜輪状膿瘍の細菌内毒素による形成. 眼紀 36: 1013—1018, 1985.
- 2) Lüderitz O, Galanos C, Lehmann V, Nurminen M, Rietschel ET, Rosenfelder G, Simon M, Westphal O: Lipid A: Chemical structure and biological activity. J Infect Dis 128(Suppl) S17—29, 1973.
- 3) Inada K: Complement activating property of the protein-rich endotoxin (OEP) of *Pseudomonas aeruginosa* II. Complement activating property of the lipopolysaccharide protein and the inhibition by polymyxin B. Japan. J Exp Med 50: 107—115, 1980.
- 4) 熊谷俊一, 谷藤泰寛, 田澤 豊, 日沼州司: *Erwinia herbicola* 角膜感染における病変と菌抗原との関連. 眼紀 31: 199—206, 1980.
- 5) Mondino BJ, Rabin BS, Kessler E, Gallo J, Brown SI: Corneal rings with gram-negative bacteria. Arch Ophthalmol 95: 2222—2225, 1977.
- 6) Mondino BJ, Brown SI, Rabin BS, Bruno J: Alternate pathway activation of complement in a *Proteus mirabilis* ulceration of the cornea. Arch Ophthalmol 96: 1659—1661, 1978.
- 7) Mondino BJ, Brown SI, Rabin BS: Role of complement in corneal inflammation. Trans Ophthalmol Soc UK 98: 363—366, 1978.
- 8) 高田春比古, 小谷尚三: リピド A の合成研究の最近の進歩—歯周病研究との関わり—, 日本歯科評論 504: 83—93, 1984.
- 9) 吉田昌男: 内毒素の生物活性概説. 内毒素—その構造と活性—, 148—158, 医歯薬出版, 東京, 1983.
- 10) Howes EL Jr, Morrison DC: Lipid A dependence of the ocular response to circulating endotoxin in rabbits. Infect Immun 30: 786—790, 1980.
- 11) Chusid MJ, Davis SD: Polymorphonuclear leukocyte kinetics in experimentally induced keratitis. Arch Ophthalmol 103: 270—274, 1985.
- 12) Cleveland RP, Hazlett LD, Leon MA, Berk RS: Role of complement in murine corneal infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 237—242, 1983.
- 13) 熊谷俊一: *Erwinia herbicola* による実験的家兎角膜感染症—*Erwinia herbicola* の病原性と corticosteroid 投与の影響—, 日眼 84: 215—224, 1980.
- 14) 服部俊夫: リボモジュリンの生理活性. Minophagen Medical Review, 30: 234—240, 1985.
- 15) 鶴藤 丞: アラキドン酸カスケードと薬. 現代医療社, 23—38, 東京, 1985.
- 16) Bhattacharjee P: Ocular responses and the release of prostaglandin-like substances by *Shigella* endotoxin. J Physiol 246: 38—39, 1975.
- 17) 平田陸正: Haemodynamic action 血管作用. 内毒素—その構造と活性—, 175—190, 医歯薬出版,

東京, 1983.

- 18) **Bazan HEP, Birkle DL, Beerman R, Bazan NG**: Inflammation-produced stimulation of the synthesis of prostaglandins and lipoxigenase-reaction products in rabbit cornea. *Cur Eye Res* 4: 175-179, 1985.
- 19) 塩川優一: 抗炎症剤と活性酸素. *最新医学* 39: 1362-1367, 1984.
- 20) 伊藤敬三, 能勢尚志: KB-1043 ならびに数種抗炎症薬の Prostaglandin および SRS-A 生合成に対する作用. *日薬理誌* 80: 341-348, 1982.
- 21) **Ford-Hutchinson AW, Bray MA, Doig MV, Shipley ME, Smith MJH**: Leukotrien B, a potent chemokinetic and aggregating substance released from polymorphonuclear leukocytes. *Nature* 286: 264-265, 1980.
- 22) **Smith MJH, Ford-Hutchinson AW, Bray MA**: Leukotrien B, a potential mediation of inflammation. *J Pharm Pharmacol* 32: 517-518, 1980.

(第90回日眼総会原著)