

網膜色素上皮細胞の組織特異抗原に対する モノクローナル抗体 (図5)

加 藤 秋 成 (東京医科大学眼科学教室)
(東京厚生年金病院眼科)

Monoclonal Antibody to Tissue-Specific Antigen of the Retinal Pigment Epithelium

Shusei Kato

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical college

要 約

網膜色素上皮細胞 (RPE) に組織特異抗原が存在することを明らかにするために、抗 RPE モノクローナル抗体 (MoAb) を作成した。MoAb の作成はウシ RPE の不溶性成分を免疫した BALB/c マウスの脾細胞と BALB/c マウス、ミエロマ細胞を用いた hybridoma 法で行なった。抗 RPE MoAb は免疫蛍光抗体法直接法により、ウシ、ブタ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス、ヒトの RPE を特異的に染色し、他の組織に陽性反応を認めなかった。ウシ、ブタ、ヒトの RPE を SDS-PAGE で泳動、分離し、Western blot 法で転写した後、抗 RPE MoAb と酵素抗体法にて反応させた。その結果、分子量約10万の位置に陽性バンドが検出された。抗 RPE MoAb により RPE にある組織特異抗原の存在がより明らかになった。(日眼 92: 638—645, 1988)

キーワード：網膜色素上皮，組織特異抗原，モノクローナル抗体，不溶性蛋白質

Abstract

To clarify the presence of tissue-specific antigen in the retinal pigment epithelium (RPE), an anti-RPE monoclonal antibody (MoAb) was prepared. The anti-RPE MoAb was made by fusion of spleen cells from BALB/c mice immunized with insoluble components of cattle RPE and nonsecreting myeloma P3X63Ag8U 1. The anti-RPE MoAb specifically stained cattle, swine, rabbits, guinea pigs, rat, mice, and human RPE by the direct immunofluorescent technique, but no reaction was observed in other ocular and extraocular tissues. Cattle, swine, and humans RPE were electrophoresed and isolated by SDS-PAGE, then transcribed by Western blotting. When it was reacted with anti-RPE MoAb by the enzyme antibody technique, a positive band was observed at a molecular weight of 101K. These results show that the presence of a tissue-specific antigen was more clearly demonstrated by using anti-RPE MoAb. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 638—645, 1988)

Key words: Retinal pigment epithelium, Tissue-specific antigen, Monoclonal antibody, Insoluble protein

緒 言

網膜抗原に対する免疫学的研究は、実験的自己免疫

性ブドウ膜・網膜炎 (EAU) の発症に関連して急速な
進歩をとげている。また、網膜色素上皮細胞 (RPE)
に関しては、近年その機能の重要性が認識され、主に

別刷請求先：160 東京都新宿区西新宿 6—7—1 東京医科大学眼科学教室 加藤 秋成 (昭和62年11月10日受付)

Reprint requests to: Shusei Kato, M.D. Dept. of Ophthalmol., Tokyo Medical College

6-7-1Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan

(Accepted November 10, 1987)

生理学的、生化学的アプローチで研究が進んでいるものの免疫学的研究は、ほとんどなされていない。これは従来 RPE が、Uvea と共に処理、実験されてきたため、正確な情報が得られなかったことと、RPE には貪食作用があるため RPE の抗原性はある¹⁾²⁾としながらも網膜抗原の contamination によるもの³⁾⁴⁾と、解釈されてきたので、それ以上の免疫学的研究が積極的に展開されなかったと考えられる。我々⁵⁾は1985年に、RPE に組織特異抗原の存在することを明らかにし、また同時に RPE 抗原は RPE の不溶性成分にあることを示した。しかしながら RPE 抗原は不溶性成分にあるため、抗原の精製が難しく、前報⁵⁾においては夾雑抗体を多量に含む、ポリクローナル抗体を作成した上で吸収操作をおこない、RPE の特異抗原の存在を証明するに留まった。RPE の免疫学的研究を今後発展させる上には、通常の方法により得られる抗血清では特異性、力価、再現性などに限界がある。このため方法論の転換が要求され、モノクローナル抗体の作成が不可欠と考えられた。

このたび、RPE 抗原に対するモノクローナル抗体の作成を試み成功し、またこれによる新たな知見を得ることができたので、ここに報告する。

実験方法

1. 抗 RPE モノクローナル抗体 (RPE MoAb) の作成

1) RPE 抗原の作成

ウシ眼球を角膜輪部より約8mmの所で全周切開し、眼杯を前眼部より分離した。眼杯から注意深く硝子体と網膜を除去した後、約2mlの0.1M 磷酸緩衝生理食塩水 pH7.2 (PBS) を眼杯に注ぎ、シリコンラバーで軽く擦過しつつビベティングを繰り返して RPE を剝離採取した。これを PBS に浮遊させ1,200rpm, 10分間、3回遠心分離し洗滌した。

上記操作で得られた RPE を0.03M PBS pH7.6に再浮遊させた後、凍結融解し、氷冷下で50W, 1分間、3回、超音波破碎した。その後、15000×G, 30分間、2回遠心分離をおこない、RPE 抗原を含む沈渣成分を得た。

2) マウスへの免疫

BALB/c マウス1匹当たり、ウシ3眼分の RPE 沈渣成分を0.5mlのPBSに浮遊させ、これを腹腔内へ接種した。2週間後、再免疫し、その3日後無菌的に脾臓を摘出し、細胞融合に用いた。

3) ミエローマ細胞

BALB/c マウス由来、P3X63Ag8U・1 (P3UI) 株 (Japanese Cancer Research Resources Bank) をあらかじめ培養増殖させ、コンディショニングしておき、細胞融合に用いた。

使用培地……基本培地 (D-MEM, 10%FCS, 2mM L-グルタミン, 100U/ml ペニシリン, 100μg/ml ストレプトマイシン, (免疫生物研究所)), に8-azaguanine 100μM (大日本製薬) を加えた。

4) 細胞融合

2) で得られた脾臓から脾細胞を取り出し浮遊細胞とし、ナイロンメッシュを通して組織片を除いた。これを溶血試薬 (免疫生物研究所) を加えた培地に浮遊させ、1,200rpm, 5分間遠心した後、培地で2回、同じ条件で遠心洗滌した。培地は全て FCS を含まないものを使用した。細胞数を数え、 2×10^6 個に調整した。

3) の P3UI 細胞を37℃で温めた FCS を含まない D-MEM で遠心洗滌後、 2×10^7 個に調整し、脾細胞と共に50ml チューブに入れ、よく混和した。1,200rpm, 5分間遠心洗滌し、上清を完全に吸引除去し、細胞ペレットをたたいてほぐした。

細胞ペレットに0.5mlの45%ポリエチレングリコール4000 (PEG, 半井化学) を軽くチューブを振盪しながら、1分間かけて少しづつ加えた。その後1分間、37℃温浴中でゆっくり回しながら PEG を浸透させた。37℃に温めておいた D-MEM を初めゆっくりと滴下し、その後最終的に10mlを加え、反応を止めた。すみやかに1,200rpm, 5分間遠心の後、基本培地20mlに浮遊させた。これを24well プレートに1ml/well で分注し、5%炭酸ガス中、37℃で培養した。

翌日 HAT 培地を1ml/well 追加し、以後3日ごとに半量づつ HAT 培地を交換した。

HAT 培地

基本培地100mlに以下の100倍アミノプテリン保存液1mlと、100倍 HT 保存液1mlを溶解し使用。

100倍アミノプテリン保存液 (大日本製薬): アミノプテリン1.76mg/100ml 再蒸留水

100倍 HT 保存液 (大日本製薬): ヒポキサンチン136.1mg, チミジン38.8mg/100ml 再蒸留水

HT 培地

基本培地100mlに100倍 HT 保存液1mlを溶解し使用。

5) 融合細胞のスクリーニングとクローニング

スクリーニングの方法はあらかじめブタ RPE を塗

拭し、アセトン固定した標本を用意し、免疫蛍光抗体法間接法にておこなった。1次抗体は融合細胞培養上清を、2次抗体はFITC標識抗マウスIgGヤギIgG(Miles社)を用い、37℃で各45分間反応させた。

第1回目のスクリーニング後、抗RPE抗体産生株の存在するwellから5細胞/200 μ lとなるよう希釈し、96wellプレート5枚に分注、増殖させ、クローニングした。

2回目のスクリーニングを行なった後、24wellプレートに移し替え、更に第3回目のスクリーニングをウシ網膜切片に対し、蛍光抗体法間接法で行なった。その後再び限界希釈法によるクローニングをし、96wellプレート2枚に培養し、よく増殖している物を選び24wellプレートに移し替えた。

第4回目のウシおよびラット眼球切片に対する蛍光抗体法間接法によるスクリーニングで最良の物を3つ選択した。これを24wellプレートで増殖させ、200ml培養フラスコで更に増殖させた。

6) 腹水抗体の作成、粗精製、FITC標識抗体の作成

ブリストン(半井化学)0.5mlをBALB/cマウス腹腔内に注射し、その1週間後に増殖させた3系列のハイブリドーマをそれぞれマウス1匹当たり 2×10^6 個、腹腔内に注射した。2週後、マウスに腹水が多量に溜まったことを確認し、腹水を回収した。

採取した腹水に等量のPBSを加え1,500rpm、10分間遠心し、さらに上清に等量の飽和硫酸溶液を加え50%飽和とし、一夜4℃で静置後12,000rpm、30分間遠心した。沈渣に5mlの蒸留水を加え4℃でPBSによる透析を一夜おこない、蛋白量を280nm紫外吸光度から測定した。

得られた抗体分画の一部はFITC(Research Organic Inc.)をRiggs⁶⁾の方法で標識した。

2. 抗RPE MoAb免疫グロブリンの検定

5) で得られた雑種細胞株が、モノクローンであることを確認するために、得られた抗体の免疫グロブリンを検定した。融合細胞培養上清と、マウス・免疫グロブリンの各クラス、サブクラス、L鎖タイプ抗血清(ICN Immuno Biologicals)を免疫2重拡散法により反応させた。

3. 抗RPE MoAbの検定(特異性の証明)

得られた抗RPE MoAbが、1) 動物の種に関わりなく、2) 組織特異的に、RPEのみと特異的に反応するか否かを検定した。

1) 各種動物眼球切片に対する蛍光抗体法直接法。

前報⁵⁾と同様のPLP固定、凍結包埋したウシ、ブタ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス、ヒトの凍結眼球切片に対し、蛍光抗体法直接法をおこなった。

非特異的な反応を抑制するために、前処置としてBALB/Cマウスの正常血清(PBSで1:20に希釈)を37℃、20分間反応させた。次にFITCで標識した抗RPE MoAb(1:10)を37℃、45分間反応させた。その後、冷PBSで4回洗滌し、グリセリン封入後、蛍光顕微鏡にて観察した。

2) ウシ各種組織に対する蛍光抗体法直接法

眼球と同様の方法で固定、凍結包埋したウシ脳、肝、甲状腺、胸腺、脾の凍結切片に対し、1)と同様の方法で蛍光抗体法直接法をおこなった。

4. SDS-PAGE, Western blottingによるRPE抗原の検出

1) SDS-PAGE

Laemmli⁷⁾の不連続緩衝液系のポリアクリルアミドゲル電気泳動に準拠しおこなった。

使用ゲルはアクリルアミド4~20%の濃度勾配を有する、SDS-PAGEプレート4/20(第一化学薬品)を使用した。

電気泳動条件は

サンプル処理液……0.0625M トリス-塩酸(pH6.8), 2%SDS, 10%グリセロール, 5%2-メルカプトエタノール, 0.001%BPB.

泳動緩衝液……0.025M トリス, 0.192M グリシン, 0.1%SDS(pH8.4). これを60mA定電流で、60分間泳動した。

試料

① ウシRPE……5眼分を超音波破碎し、サンプル処理液に加え全量1mlとした。これを100℃、30秒加熱し、0.45 μ mのミリポアフィルターで濾過した後サンプルとした。

② ウシRPE不溶性成分……1. 1)のRPE抗原の作成と同様にし、5眼分のRPEから不溶性成分を得た。その後①と同様にサンプル処理液に加え、加熱濾過し、全量を1mlとした。

③ ブタRPE不溶性成分……15眼分RPEを②と同様に処理し、全量1mlとした。

④ ヒトRPE不溶性成分……2眼分のRPEを②と同様に処理し、全量0.5mlとした。

⑤ FL細胞(ヒト羊膜単層上皮細胞:東京医科大学微生物学教室, ルナール純子氏より分与)……50ml培養フラスコfull layer分を①と同様に処理し全量を

0.5mlとした。

⑥ 分子量マーカー (BIORAD 社) ……1:20に稀釈し①と同様の処理後使用した。

①~⑥の試料を1枚のスラブゲルに各レーン10 μ lづつ2セットとして入れ、一部は泳動終了後銀染色をおこない、一部はそのままニトロセルロース膜へ転写をおこなった。

2) Western blotting

マリソル産業製の転写装置を用い電極間1cm 当り7 Vの電圧で2時間泳動した。

抗原の検出は、以下のように酵素抗体法にておこなった。

ニトロセルロース膜を0.05% Tween20—0.05M トリス塩緩衝液 (TBS) (pH7.2) で5分間、3回洗滌し、3% BSA—TBS (pH7.2) を37 $^{\circ}$ C、1時間反応させ膜の蛋白非吸着部分をすべてBSAで覆った。非特異的反応を抑制するために、5%正常ウサギ血清—TBSをマウントし37 $^{\circ}$ C、30分反応させた。1次抗体として抗RPE MoAb (マウス腹水抗体より精製) を3% BSA—TBSで50倍に稀釈したものを使用し、37 $^{\circ}$ C、1時間反応させた。洗滌後、BSA—TBSにて1000倍に稀釈したペルオキシダーゼ標識抗マウスIgG ウサギIgG (Miles 社) を加え、室温にて1時間半振盪しながら反応させた。さらに洗滌後、使用直前に調整しておいた0.02% 3,3'-Diaminobenzidine (和光純薬)—0.05% H₂O₂液⁹⁾にニトロセルロース膜を入れ反応させた。発色を確認し、蒸留水にて洗滌し反応を停止した。

結 果

1. 抗RPE MoAbの作成

1) 抗RPE MoAb産生雑種細胞株

細胞融合後14日目より、コロニーが認められるようになり、19日目に初回スクリーニングをおこなった。24well 中、1wellのみが、陽性であった。この陽性wellの細胞の一部は凍結保存し、一部は限界希釈法によりクローニングをおこなった。すなわち、融合細胞を5個/200 μ lに稀釈し、96well プレート5枚に分注した。このうち92のwellで、細胞増殖が認められ、第2回目のスクリーニングで55wellが陽性を示した。さらに増殖の良いものを35well選択し、1つのwellから1つのコロニーの細胞を選び、24well プレートに移し替えた。第3回目のスクリーニング後、良いものから7wellを選び凍結保存し、一方このうち最良のもの2wellに

ついて、第2回目のクローニングをおこなった。すなわち融合細胞10個/200 μ lに稀釈し、96well プレートにそれぞれ2枚づつ計4枚に分注した。よく増殖しているwellを50選び、1wellから1つのコロニーの細胞を取るようして24well プレートに移し替え、増殖させた後、第4回目のスクリーニングをおこなった。その結果最も良いもの3wellを最終的に選択した。

得られた3つの雑種細胞株にそれぞれNo. 6816, 9220, 9222と開発ナンバーをつけた。

2) 腹水抗体

プリスタンで前処置したBALB/cマウスの腹腔内に上記3lineの雑種細胞をそれぞれ4匹づつ接種し、2週間後に、いずれも多量に腹水を得ることができた。腹水は塩析後、透析し、蛋白量2mg/mlに調整、分注し、凍結保存した。

FITCを標識した抗体のF/P比は3.5であった。

2. 抗RPE MoAb免疫グロブリンの検定

得られた3つの雑種細胞株の産生する免疫グロブリンは、いずれもIgG2b, L鎖 κ タイプであり、それぞれモノクローンであることが確認された。

3. 抗RPE MoAbの検定 (特異性の証明)

1) 各種動物眼球切片に対して

FITC標識抗体 (No. 9222) を用いて、蛍光抗体法直接法をおこなった。抗RPE MoAbはウシ、ブタ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス、ヒトのRPEを特異的に染色した (図1, 2, 3, 4)。

2) ウシ各種組織に対して

上記と同様にウシ脳、肝、甲状腺、胸腺、脾に対し蛍光抗体法直接法を行なったが、いずれの組織とも陽性反応は認められなかった。

4. SDS-PAGE, Western blottingによるRPE抗原の検出

ウシRPE全成分、ウシ・ブタ・ヒトの各RPE沈渣成分は抗RPE MoAbとの反分子分子量101Kの位置にそれぞれ一本の共通した蛋白バンドが認められた (図5)。また、ヒトFL細胞には陽性反応を認めなかった。

考 按

RPEの抗原性については従来定説がなく、Reich-D'Almeida¹¹⁾は、白色家兎のRPEを組織培養したものをモルモットに接種した実験で、RPEにはretinaのvisual cellにある抗原とは全く異なった抗原性があるとしながらも、毛様体上皮および脈絡膜にも同じ抗原性を示すものが存在すると報告している。

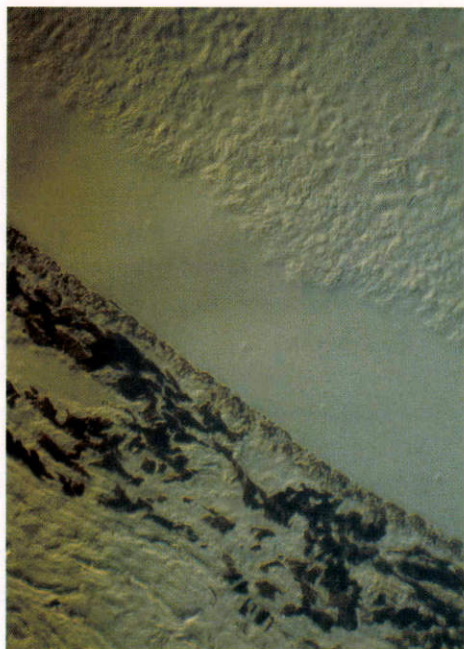


図 1a

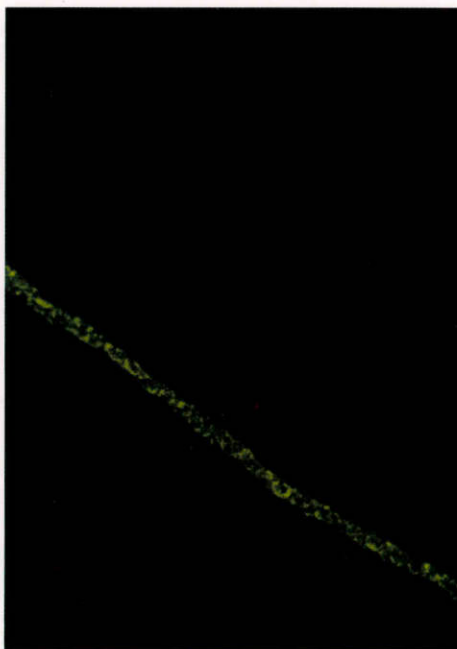


図 1b

図1 ウシ眼球切片. aは位相差顕微鏡像, bは同一部の蛍光像, RPEが特異的に染色されている. $\times 160$

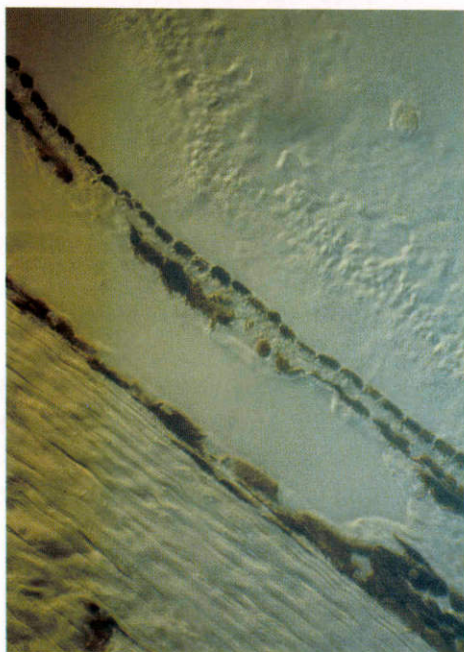


図 2a

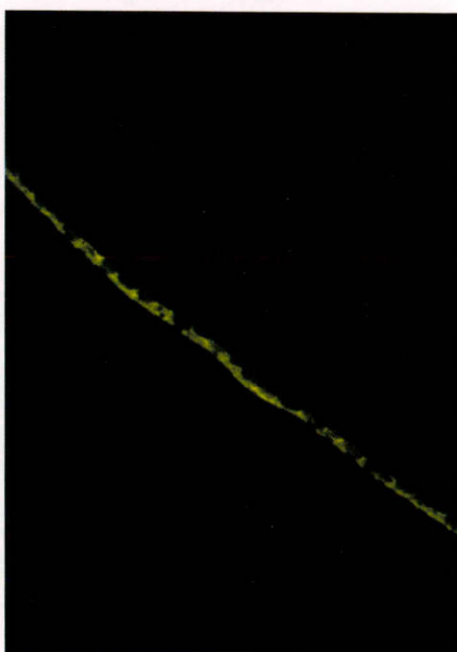


図 2b

図2 ブタ眼球切片. aは位相差顕微鏡像, bは同一部の蛍光像, RPEが特異的に染色されている. $\times 160$

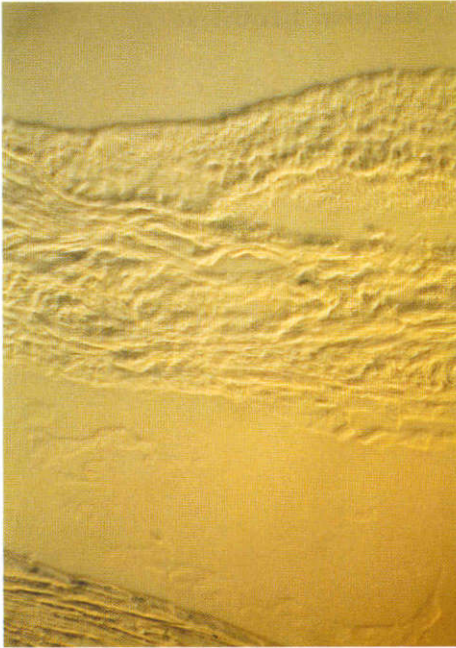


図 3a

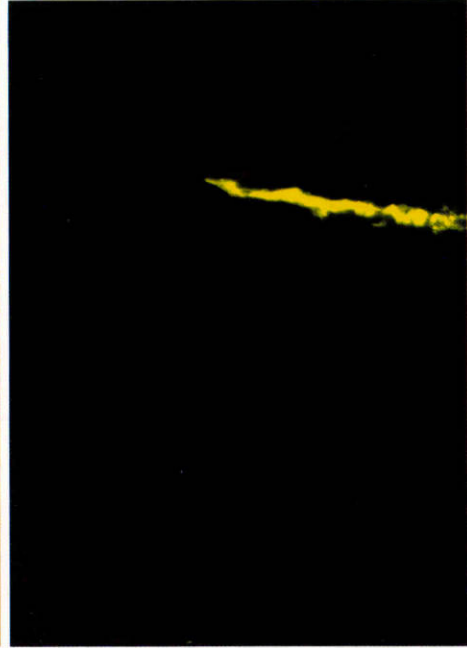


図 3b

図 3 ウサギ眼球切片. a は位相差顕微鏡像, b は同一部の蛍光像, RPE は特異的に染色され, 毛様体扁平部に移行する部位で特異蛍光は消失する. $\times 160$



図 4a

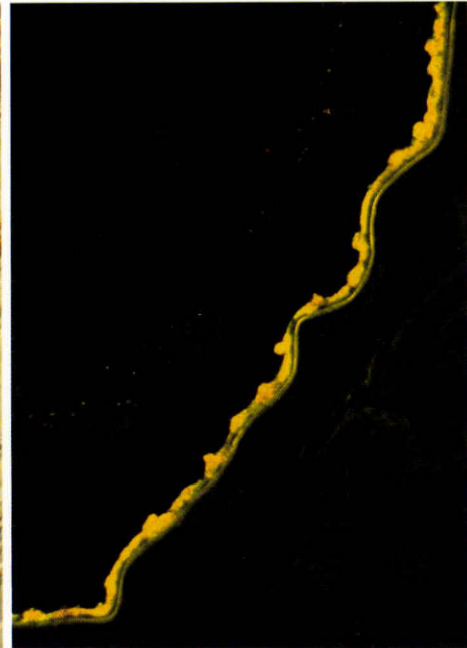


図 4b

図 4 ヒト眼球切片. a は位相差顕微鏡像, b は同一部の蛍光像, RPE は顆粒状の自発蛍光と共に特異的に染色されている. $\times 160$

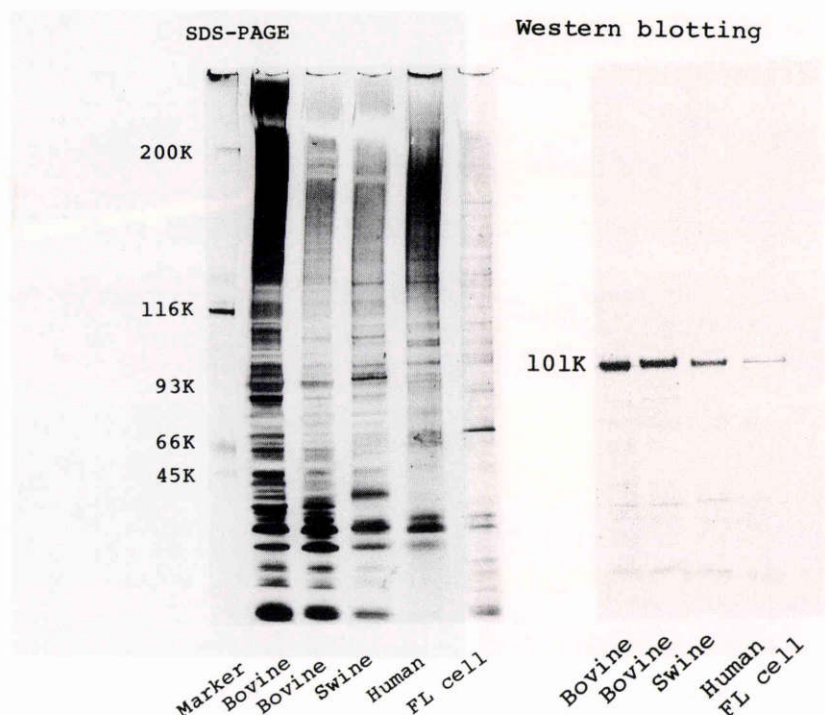


図5 左半分はSDS-PAGE後、銀染色をしたもの、右半分はSDS-PAGE、Western blotting後、酵素抗体法をおこなったもの。ウシ、ブタ、ヒトのRPEでは約101Kの位置に陽性バンドを認めるが、ヒト羊膜上皮細胞(FL cell)では陽性反応を認めない。

また meyers ら²⁾は RPE による EAU 発症に関する最初の報告として、RPE は EAU を発症させるとしているが、RPE の抗原性の詳しい分析はおこなわれていない。

そして Faure ら³⁾は RPE による EAU の実験で、RPE の pathogenic effect は外節抗原が貪食あるいは contamination のため残存しているからであろうと述べている。

一方、RPE の抗原性と切り離すことができない問題はぶどう膜の抗原性との関連である。従来歴史的に RPE は choroid と一緒に uvea として処理されてきた。Wacker⁹⁾¹⁰⁾は uveal specific antigen として U 抗原の存在を主張している。U 抗原は particulate antigen であり、局在は Bruch 膜または RPE の基底にあるようだとし、またその同種の uvea により感作された delayed hypersensitive response ではぶどう膜に種特異性を示すとされている。

U-antigen はその蛍光像を見ると、一見 RPE 抗原と類似しているのですその異同が問題となる。Wacker は choroid と RPE を一緒にして接種しているため、

彼の言う U-antigen は単一なものではなく、RPE と choroid に含まれる抗原の総体での話ということになる。

RPE はその細胞の性質上、貪食の機能があり、また解剖学的にも視細胞外節と密着しているため、RPE を採取する時に他の各種抗原の混入は不可避である。また一方 RPE 抗原は不溶性であるため、抗原を多量に精製することは容易でない。以上の事柄が原因し、RPE の抗原性については緒説がある。

我々は前報において、RPE のみをウサギに感作させ、抗血清を得、これから全ての網膜抗原を吸収操作により排除することにより初めて、RPE には組織特異抗原が存在し、それは RPE の不溶性成分にあることを明らかにした。そして更に研究を一步進めるために、RPE の MoAb を作成することは、当然の帰結であった。今回作成した抗 RPE MoAb は、前回得た組織特異抗原であるという結果を活用し、スクリーニング法に、種の異なるブタ RPE を使用し、有効なスクリーニング法を確立した。得られた MoAb のグロブリンの検定では、モノクローンであることが証明された。また、

得られた MoAb が、RPE 抗原を認識するものであるか否かを検定した結果、各種動物眼球切片に対し RPE のみと特異的に反応し、他のウシ各種組織とは反応しないことから、正しく RPE 抗原を認識する MoAb であることが証明された。またこのことは裏返して見て、前報において主張した RPE の組織特異抗原の存在を再確認したことになる。

RPE 抗原が発生学的に同一の毛様体色素上皮に存在するか否かは、興味ある問題である。実験に用いたいずれの動物眼球切片においても抗 RPE MoAb は毛様体と反応しなかった。したがって毛様体色素上皮に RPE 抗原は存在しないと思われた。このことは sensory retina とその代謝に必要な物質を供給する脈絡膜側との間に存在する或る意味での interface 的な役割を演ずる RPE の機能に、なんらかの関係があるのかも知れない。

SDS-PAGE, Western blotting による RPE 抗原の検出はその検出に成功し、ウシ、ブタ、ヒトに共通し、この条件下で抗 RPE MoAb は分子量101K の物質にある抗原決定基を認識した。このことは一方で RPE 抗原の種を越た組織特異性を裏づけ、また一方で、SDS で可溶化することができ、泳動・転写後も、その抗原性を失わず、精製の可能性があることを示した。

RPE 抗原は RPE の不溶性成分にあり、おそらくその膜成分にあると思われるが、その正確な局在、生理的な意義は、現在のところ不明である。

これまで RPE を含む疾患における RPE の免疫学的な関与は疑われながらもほとんど研究されていない。実験動物における EAU に関しては臼井ら¹¹⁾の報告が見られ、最近になり Uveitis¹²⁾や、retinitis pigmentosa¹³⁾の患者の眼組織切片上で RPE に、HLA-DR antigen が発現されるという報告がなされ、RPE の免疫学的な関与が研究され始めている。RPE 抗原がはたして病理的な役割をはたすものであるのか、また EAU の実験モデルとなりうるのか、はたまた生理的な意義はいかなるものか、多くの興味ある問題に対する解答が今後の研究に待たれる。

稿を終えるにあたり、ご校閲いただきました松尾治亘教

授、またご指導ご教示いただきました臼井正彦教授、高村健太郎先生に深謝致します。

なお、本論の要旨は第91回日本眼科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Reich-D'Almeida F, Rahi AHS: Antigenic specificity of retinal pigment epithelium and non-immunological involvement in retinal dystrophy. *Nature* 252: 307—308, 1974.
- 2) Meyers RL, Pettit TH: Pathogenesis of experimental allergic uveitis induced by retinal rod outer segments and pigment epithelium. *J Immunol* 114: 1269—1274, 1975.
- 3) Faure JP, Dorey C, Tuyen VV, et al: Experimental autoimmune uveo-retinitis and specificity of retinal antigens. *Mod Probl Ophthalmol* 16: 21—29, 1976.
- 4) Faure JP: Autoimmunity and the retina. *Current Topics in Eye Research*, Vol 2, 268, Academic Press, New York, 1980.
- 5) 加藤秋成, 高村健太郎, 臼井正彦: 網膜色素上皮細胞に由来する組織特異抗原について. *眼紀* 36: 243—248, 1985.
- 6) Riggs JL: Isothiocyanate compound as fluorescent labeling agent for immune serum. *Am J Path* 34: 1081—1097, 1958.
- 7) Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature* 227: 680—685, 1970.
- 8) 日本組織細胞化学会編: 組織細胞化学1981, p11, 学際企画, 東京, 1981.
- 9) Wacker WB: Autoimmune uveitis (choroiditis) in the guinea pig sensitized with homologous uvea and its differentiation from that following sensitization with homologous retina. *Int Arch Allergy* 43: 39—52, 1972.
- 10) Wacker WB, Kalsow CM: The role of uveal and retinal antigens in experimental autoimmune ocular pathology. *Mod Probl Ophthalmol* 16: 12—20, 1976.
- 11) 臼井正彦, 松島利明, 坂井潤一他: 実験的自己免疫性葡萄膜炎の発生機構における網膜色素上皮の関与について. *日眼* 84: 1064—1074, 1980.
- 12) Chan CC, Detrick B, Nussenblatt RB, et al: HLA-DR antigens on retinal pigment epithelial cells from patients with uveitis. *Arch Ophthalmol* 104: 725—729, 1986.
- 13) Detrick B, Rodrigues M, Chan CC, et al: Expression of HLA-DR antigen on retinal pigment epithelial cells in retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 101: 584—590, 1986.

(第91回日眼総会原著)