

抗リポ多糖体抗体と水晶体

—免疫組織学的検討— (図4)

砂川光子 (三菱京都病院眼科)

要約

リポ多糖体と水晶体の関係について、水晶体組織と、抗リポ多糖体抗体との交叉反応性について、蛍光抗体法を用いて検討を加えた。正常家兎の血清を用いた切片では、びまん性の蛍光が認められるのみで、水晶体の構造には、一致しなかったが、抗リポ多糖体血清と、抗水晶体蛋白血清を用いた切片とでは、同様に、規則的な六角形の構造に一致した蛍光が認められた。(日眼会誌 93:595—598, 1989)

キーワード：抗リポ多糖体抗体、水晶体、ぶどう膜炎、交叉反応性、蛍光抗体法

Anti-lipoplysaccharide antibody and lens

—Immunohistological study—

Mitsuko Sunakawa

Department of Ophthalmology, Mitsubishi-Kyoto-Hospital

Abstract

The relationship between lipopolysaccharide and lens protein was studied using the indirect immunofluorescence test. The anti-lens proteins serum and anti-lipoplysaccharide serum reacted strongly with sections of rabbit lens, although normal rabbit serum did not react. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 93: 595—598, 1989)

Key words: anti-lipoplysaccharide antibody, lens, uveitis, cross reactivity, immunofluorescence test

I 緒言

リポ多糖体とは、グラム陰性菌の内毒素で、Bリンパ球増殖の刺激を含め、生体にも様々な反応をおこす¹⁾。以前より眼組織にも、炎症反応を起こす事が知られている^{2)~8)}。われわれは、先に、近交系家兎を用いて、リポ多糖体により、ぶどう膜炎が誘発される事を報告し、それには、水晶体蛋白の中の α クリスタリンに対する抗体とリポ多糖体の交叉反応性が起因するのではないかと示唆した⁹⁾。

今回、リポ多糖体と水晶体の関係について、水晶体組織と、抗リポ多糖体抗体との交叉反応性について、蛍光抗体法を用いて検討を加えたので報告する。

II 方法

1. 切片

屠殺直後、取り出した家兎水晶体を、マウント剤 (Tissue-Tek II O.C.T compound) に -20°C で凍結包埋した。次に、凍結切片は、Cryostat (Tissue-Tek II, Miles) にて 6μ に作成した。切片の一部は、自然乾燥

別刷請求先：〒615 京都市西京区桂御所町1 三菱京都病院眼科 砂川光子

(平成元年1月23日受付, 平成元年4月17日改訂受理)

Reprint requests to: Mitsuko Sunakawa Department of Ophthalmology, Mitsubishi-Kyoto-Hospital

Katsura-gosho-cho, Nishigyō-ku, Kyoto 615 Japan

(Received January 23, 1989 and accepted in revised form April 17, 1989)

後、ホルマリン固定し、HE染色を行い観察した。残りの切片は、蛍光抗体法で観察した。

2. 抗リポ多糖体血清

チフス菌の Lipopolysaccharide 0901(Difco, USA) を、生理食塩水で $10\mu\text{g/ml}$ の濃度とし、その 1cc を、耳静脈に静脈注射して、感作した家兎の血清で、Widal反応にて、 $\times 640$ の抗体価のあるものを用いた。

3. 抗水晶体蛋白血清

家兎の新鮮な水晶体を蒸留水を加え、テフロン・ホモゲナイザーでホモゲナイズし、その後、 4°C で $20,000\text{rpm}$ で30分間遠心し、その上清を水晶体可溶性蛋白分画とした。この溶液と、この溶液を、DEAEセルロースクロマトグラフィーとセファデックス G-200で分画して得た α クリスタリン分画を用いた。

水晶体蛋白溶液(10mg/ml)を ml と完全フロイントアジュバントを混合したものを筋肉注射して感作した。この感作した家兎の血清で、受身赤血球凝集反応にて、 $\times 1024$ 抗水晶体蛋白抗体価と抗 α クリスタリン抗体価のあるものを用いた¹⁰⁾。

4. 蛍光抗体法

凍結切片に、第一抗体として、リン酸バッファー($\text{pH}7$, 0.01M)で10倍に希釈した抗リポ多糖体血清、抗水晶体蛋白血清、対照の血清をのせ、 4°C にて、2時間反応させた。次に、リン酸バッファーで洗浄し、その後、第二抗体として、リン酸バッファーで80倍に希釈したFITC標識ブタ抗ウサギ免疫グロブリン(Dakopatts, Denmark)をのせ、 4°C にて、30分反応させ、リン酸バッファーで洗浄後、余分の水分をとって、90%グリセリンを切片に滴下し、cover glassをのせ、Nikon 蛍光顕微鏡で観察した。

III 結 果

水晶体切片のHE染色では、水晶体前囊下皮質部は、図1に示す様に、規則的な六角形の構造をしめした。

蛍光抗体法で反応させた切片を観察してみると、第一抗体として、抗リポ多糖体血清を用いた切片と、抗水晶体蛋白血清を用いた切片とでは、図2、図3に示す様に、規則的な六角形の水晶体細胞膜の構造に一致した蛍光が認められた。一方、対象として、正常家兎の血清を用いた切片とでは、図4に示す様な、水晶体全体にびまん性の蛍光が認められるのみで、水晶体の構造には、一致しなかった。

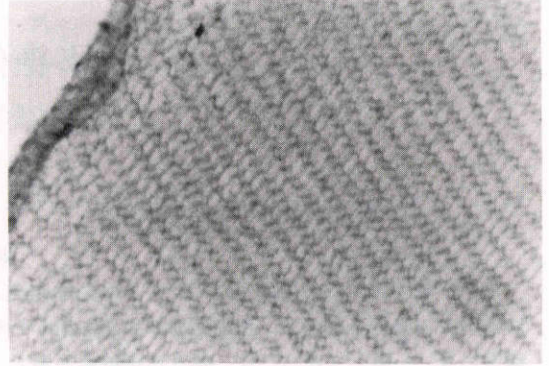


図1 水晶体切片のHE染色。 $\times 400$
水晶体前囊下皮質部は、規則的な六角形の構造をしめす。

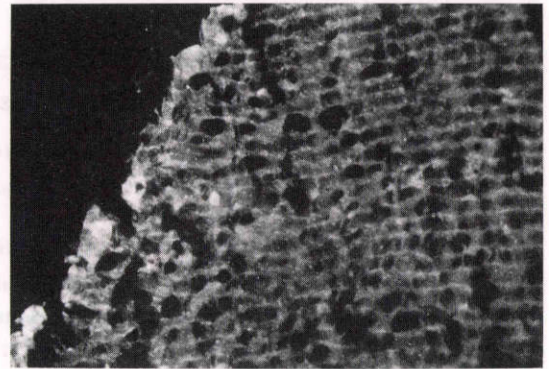


図2 第一抗体として、抗リポ多糖体血清を用いた切片の蛍光抗体法。 $\times 400$
規則的な六角形の細胞膜の構造に一致した蛍光が認められる。

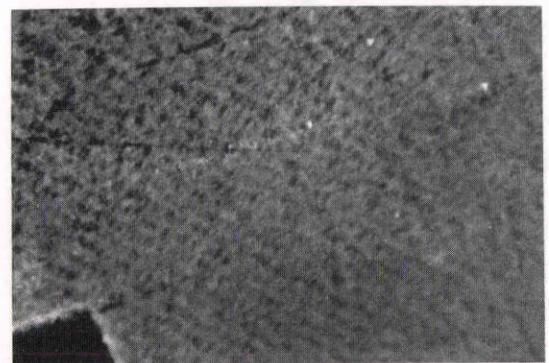


図3 第一抗体として、抗水晶体蛋白血清を用いた切片の蛍光抗体法。 $\times 400$
規則的な六角形の細胞膜の構造に一致した蛍光が認められる。



図4 第一抗体として、正常家兎の血清を用いた切片の蛍光抗体法、 $\times 400$
水晶体全体に、びまん性の蛍光が認められるのみで、水晶体の構造には、一致しない。

IV 考 按

蛍光抗体法を用いて、水晶体組織と、抗リボ多糖体抗体との交叉反応性について、検討した。正常家兎の血清を用いた切片では、びまん性の蛍光が認められるのみで、水晶体の構造には、一致しなかったが、抗リボ多糖体血清と、抗水晶体蛋白血清を用いた切片とでは、同様に、規則的な六角形の構造に一致した蛍光が認められた。

眼科的に、古くから、細菌の毒素が、ぶどう膜に反応する事が、注目されている²⁾⁻⁸⁾。われわれも先に、近交系家兎を用い、リボ多糖体を感作する事により誘発されたぶどう膜炎について、その発症機序について検討した。その中で、Radiobinding inhibition test より、抗 α クリスタリン抗体とリボ多糖体が交叉反応する事を示した⁹⁾。

今回は、逆に、抗リボ多糖体抗体と水晶体組織が、交叉反応するか、蛍光抗体法を用いて、検討した。抗リボ多糖体血清は、抗水晶体蛋白血清と同様に、水晶体組織と特異的に反応した。一方、対照として、正常家兎の血清では、特異的に、水晶体組織と反応しなかった。これらの事より、水晶体蛋白とリボ多糖体は、その抗原として認識される部分の構造が、非常に似かよっているのではないかと考えた。

臨床的にみても、先に報告したように、抗リボ多糖体抗体の出現頻度が、ぶどう膜炎患者で、対照健康人と比べ、有意に高かった。また、患者の血清の抗リボ多糖体抗体価と抗水晶体蛋白抗体価は、正の相関を示した¹¹⁾。

全身疾患で、リウマチ熱の場合、A 群連鎖球菌の感染により発症し、心筋炎を併発する。この患者の末梢血液中には、心筋組織に対する自己抗体が存在し、その自己抗体は、連鎖球菌の細胞壁や細胞膜と、交叉反応する¹²⁾。リボ多糖体と、臨床疾患についても、古くから論じられている。Reiter 症候群では、グラム陰性菌である赤痢菌によりぶどう膜炎が誘発される¹³⁾。Behçet 病の場合、連鎖球菌との関連が報告されている¹⁴⁾。しかし、Behçet 病では Lysozyme の血中濃度が、高値を示し、この Lysozyme は、リボ多糖体により放出される¹⁵⁾。これらの事より、Behçet 病の場合、腸管の病巣より、大腸菌等のグラム陰性桿菌の内毒素、つまりリボ多糖体が、血中に入り、水晶体組織との反応を介し、ぶどう膜炎を誘発しているのかも知れない。

グラム陰性桿菌の感染や、抗 α クリスタリン抗体とリボ多糖体の交叉反応性、抗リボ多糖体抗体と水晶体組織の交叉反応性が、Behçet 病を含む、一部のぶどう膜炎の発症や再発の原因になっているのではないかと、考えた。

今後、さらに検討を加えていく予定である。

文 献

- 1) Nowotny A: Molecular aspects of endotoxic reaction. *Bacteriol Rev* 33: 72-98, 1969.
- 2) Woods AS: Studies on the actions of toxins and protein degeneration products on the eye. II. The action, nature and source of the "uveal poison" of ferment-producing bacteria. *Arch Ophthalmol* 45: 451-464, 1916.
- 3) Berens C, Angevine M, Guy L, et al: Eye lesions in experimental infections: Special reference to arthritis. *Am J Ophthalmol* 21: 1315-1329, 1938.
- 4) Rosenov EC, Nickel AC: Elective localization in determining the etiology of chronic uveitis. *Am J Ophthalmol* 15: 1-18, 1932.
- 5) Ayo C: Toxic ocular reaction: I. New property of Schwarzman toxins. *J Immunol* 46: 113-125, 1943.
- 6) Howes EL, McKay DG, Aronson SB: An ultrastructural study of the ciliary process in the rabbit following systemic administration of bacterial endotoxin. *Lab Invest* 24: 217-228, 1971.
- 7) Levene RZ, Beinin GM: Ocular effects of endotoxin. *Arch Ophthalmol* 61: 568-577, 1959.
- 8) Rosenbaum JT, McDevitt HO, Guss RB, et al: Endotoxin induced uveitis in rats as a model for human disease. *Nature* 286: 611-613, 1980.

- 9) 砂川光子, 沢田真治: リポ多糖体により誘発された実験的ぶどう膜炎と水晶体蛋白. 日眼 88: 1423—1427, 1984.
- 10) Sunakawa M, Seto A, Ito Y, et al: Effects of anti-idiotypic immunizations on autoimmune uveitis induced with isologous lens proteins. Int Arch Allergy Appl Immunol 73: 71—76, 1984.
- 11) 砂川光子, 沖波 聡: リポ多糖体ぶどう膜炎. 臨眼 39: 496—497, 1985.
- 12) Cardwell JL, Kaltreider HB: Basic Clinical Immunology. Fudenberg HH, et al, Ed, 562—567, Maruzen Asia, Tokyo, 1980.
- 13) Calin A, Fries JF: In “experimental” epidemic of Reiter’s syndrome revisited follow-up evidence on genetic and environmental factors. Ann Int Med 84: 564—566, 1976.
- 14) 難波克彦, 沖田美智, 弓田 彰他: ベーチェット病と溶連菌感染. 日眼 89: 200—207, 1985.
- 15) Hayakawa S, Hara S, Mizuno K: Lysosomal enzymes in the serum of the patients with Behçet’s disease. Arbrecht von Graefes Arch Klin Ophthalmol 203: 139—144, 1977.