

ベーチェット病患者の連鎖球菌皮膚テストの検討

吉川 浩二, 大野 重昭, 笹本 洋一, 松田 英彦

北海道大学医学部眼科学教室

要 約

ベーチェット病患者の *in vivo* での連鎖球菌抗原に対する遅延型アレルギーを調べるために、皮内反応とプリックテストをおこない対照と比較した。まず患者13例、対照5例に、*S. pyogenes* と *E. faecalis* の抗原0.1ml または0.02ml を皮内注射したところ、*E. faecalis* に対し患者群で有意の反応亢進がみられた。また、抗原0.1 ml を用いた患者3例中2例で眼発作が誘発された。プリックテストは患者11例、対照6例に対し、*S. pyogenes*, *S. sanguis* (ST3, B220, SSH-83), *S. salivarius*, *E. faecalis* の6種の連鎖球菌を4種類の方法で抽出した抗原を用いて実施したところ、Crude cell wall と Whole cell の多くの抗原で患者の皮膚反応が亢進していた。ベーチェット病患者は連鎖球菌抗原に対し有意の皮膚反応亢進を示し、連鎖球菌が本病の病態に何らかの関与をしていることが示唆された。また、各連鎖球菌には共通抗原性があり、その抗原性は主に細胞壁分画に存在していると考えられた。(日眼会誌 94:181-185, 1990)

キーワード：ベーチェット病, 連鎖球菌, 皮膚テスト, 症状誘発, 共通抗原性

Studies on Delayed Skin Reactivity to Streptococci in Behçet's Disease

Koji Yoshikawa, Shigeaki Ohno, Yoichi Sasamoto,
and Hidehiko Matsuda

Department of Ophthalmology, Hokkaido University School of Medicine

Abstract

Delayed type hypersensitivity of patients with Behçet's disease was investigated by intradermal skin test and prick test, using various inactivated microorganisms as antigens. In the intradermal skin test, 13 patients showed significantly increased skin reactivity to *E. faecalis*, compared with 5 normal controls. No significant differences were observed between these two groups in terms of reaction to *S. pyogenes*. Prick test was performed in 11 patients and 6 controls, using *S. pyogenes*, *S. sanguis*, *S. salivarius* and *E. faecalis* as antigens. It was shown that patients with this disease had significantly greater skin reactions to crude cell wall antigens, as well as to whole cell antigens of these streptococci than the controls. The antigenicity of streptococci seemed to be present mainly in the cell wall fragment, and these streptococci seemed to have cross reactivity with each other. These results suggest that streptococci may have some significant role in the immunopathogenesis of this disease. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 181-185, 1990)

Key words: Behçet's disease, Streptococcus, Skin test, Induction of symptoms, Cross reactivity

別刷請求先：060 札幌市北区15条西7丁目 北海道大学医学部眼科学教室 吉川 浩二
(平成元年7月4日受付, 平成元年9月11日改訂受理)

Reprint requests to: Koji Yoshikawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Hokkaido Univ.
Kita 15, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060, Japan

(Received July 4, 1989 and accepted in revised form September 11, 1989)

I 緒 言

ベーチェット病は急性炎症発作を長期にわたってくり返す難治性の全身性疾患であり、その原因はいまだに不明である。これまでに感染、アレルギー、自己免疫、環境汚染、遺伝素因などの関与が検討されてきたが、おそらく HLA-B51 に代表される内因が存在し、そこに外因が加わり、何らかの免疫応答異常が起り、本症の病態が形成されていくものと考えられる。

近年その発症因子のひとつとして、連鎖球菌感染あるいは連鎖球菌アレルギーが注目を集めている。歴史的には、1920年の Gilbert の報告¹⁾にはじまり、1958年に氏原が本症に対する細菌感染の関与を示唆し²⁾、1959年荻原はぶどう球菌や連鎖球菌の遷延性感作が本症の根底にあることを指摘し³⁾、1963年 Barile は再発性アフタから α -streptococcus の同定をおこなった⁴⁾。また、連鎖球菌を用いた皮膚テストは、1960年浦山ら⁵⁾、1975年杉浦ら⁶⁾によっておこなわれたことがあり、ともに患者で高い陽性率が得られたと報告している。

そこで今回は、ベーチェット病患者の連鎖球菌に対する遅延型アレルギー反応を調べるため皮内反応をおこない、さらにこれまでの報告から特に関連が深いと思われる 6 種の連鎖球菌抗原を用い、抗原性の存在部位を明らかにするため 4 種類の抽出法にて作成された抗原を用いてブリックテストをおこなったので、その結果を報告する。

II 実験方法

皮内反応の対象は、ベーチェット病患者男性 4 例、女性 9 例の計 13 例(完全型 9 例、不全型 4 例)、年齢は 22 歳から 62 歳で平均 51 歳で、対照は健常男性 5 例、年齢は 24 歳から 38 歳で平均 31 歳である。

皮内反応の抗原としては、原省特定疾患ベーチェット病調査研究班より供与されたもので、Rantz-Randall のオートクレーブ法 (121°C で 15 分間熱処理し、生理食塩水に懸濁) にて抽出された *Streptococcus* (*S.*) *pyogenes* ATCC19618 (10^9 /ml) と *Enterococcus* (*E.*) *faecalis* 478 (10^{11} /ml)、および針反応と区別するために生理食塩水を用いた。各抗原液 0.1ml または 0.02ml を被検者の前腕屈側に皮内注射し、24 時間後および 48 時間後の発赤径、膿胞の有無を判定し、反応の強い方を採用した。

ブリックテストの対象は、ベーチェット病患者男性

8 例、女性 3 例の計 11 例(完全型 2 例、不全型 9 例)で、年齢は 23 歳から 60 歳で平均 40 歳で、対照は原田病 3 例、健常成人 3 例の計 6 例で、年齢は 43 歳から 75 歳で平均 54 歳である。連鎖球菌以外の対照菌についてはベーチェット病患者 4 例、対照 4 例におこなった。

ブリックテストの抗原は、皮内反応同様にベーチェット病調査研究班より供与されたもので、連鎖球菌群として *S. pyogenes* ATCC19618, *S. sanguis* ST3, *S. sanguis* B220, *S. sanguis* SSH-83, *S. salivarius* HHT, *E. faecalis* 478 の 6 種の細菌を用いた。各細菌を TTY 透析外液培地で 37°C、18 時間静置培養し、その後遠心で集菌し蒸留水で 3 回洗浄し凍結乾燥した全菌体を、それぞれ破碎菌体の物理的可溶性菌体抽出物 (Mechanical Brown extract, MBE)、全菌の熱性食水抽出物 (Rantz-Randall extract, RRE)、粗細胞壁分画 (Crude cell wall, CCW)、全菌体 (Whole cell, WC) の 4 種類の方法で分離し、計 24 種類の抗原を作成し、生理食塩水とともに用いた。また、連鎖球菌以外の細菌に対する反応も調べるために、Whole cell の *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter calcoaceticus subspecies anitratus*, *Propionibacterium acnes* の 6 種の抗原も用いた。ブリックテストの方法は、あらかじめアルコール綿で清拭、乾燥させた患者の前腕屈側に抗原 1 滴を滴下し、木綿針で軽く出血する程度に穿刺し、48 時間後の発赤径および膿胞の有無を判定した。

なお、統計学的有意差検定の方法として、発赤径には Welch-t 検定を、膿胞陽性率には χ^2 検定を用いた。

III 結 果

皮内反応では、まず通常の遅延型過敏反応に用いられる抗原量 0.1ml を用いてベーチェット病患者 3 例に皮内注射したところ、全例で大きな紅斑をつくり、2 例では膿胞を形成した。また、症例 1 では皮内反応の翌日に 7 カ月ぶりに左眼前眼部発作を起し、症例 2 では施行 2 日後に 3 カ月ぶりに右眼眼底発作を起した (表 1)。

そこで抗原を 0.02ml に減量して皮内反応を実施したところ、*S. pyogenes* では、患者群の平均発赤径が 16.9mm、対照群で 16.9mm であり両者間に差はなかった。これに対し、*E. faecalis* では、患者群で 21.1mm、対照群で 0.8mm と患者群で有意の反応亢進がみられた ($p < 0.01$)。また、生理食塩水では患者群、対

表1 皮内反応発赤径 (抗原 0.1 ml)

抗原	症例1 59歳女性	症例2 50歳女性	症例3 22歳男性
S. pyogenes	52×43*	47×32	34×26
E. faecalis	48×47*	33×27	52×36*

*膿疱形成 (mm)

表2 皮内反応発赤径 (抗原 0.02 ml)

抗原	ペーチェット病患者 mean±S.D. (mm)	対 照 mean±S.D. (mm)
S. pyogenes	16.9±8.2	16.9±10.7
E. faecalis	21.1±14.9*	0.8±1.8*

*p<0.01

表3 ブリックテスト発赤径

抗原	ペーチェット病患者 mean±S.D. (mm)	対 照 mean±S.D. (mm)
RRE S. sanguis (ST3)	1.4±1.0	0.2±0.5*
CCW S. pyogenes	6.0±4.6	0.8±1.5*
S. sanguis (ST3)	11.0±8.3	0.7±1.2**
S. sanguis (B220)	14.0±8.3	1.0±1.7**
S. sanguis (SSH-83)	13.0±11.9	0.5±0.7*
S. salivarius	8.5±8.0	0.7±1.2*
E. faecalis	10.0±5.3	0.2±0.5**
WC S. sanguis (ST3)	14.0±8.0	1.3±1.7**
S. sanguis (SSH-83)	15.0±5.3	0.8±1.7**
S. salivarius	8.0±7.6	1.1±1.5*
E. faecalis	12.0±7.3	0.0±0.0**

*p<0.05 **p<0.01

表4 ブリックテスト膿疱陽性率

抗原	ペーチェット病患者 (%)	対 照 (%)
CCW S. pyogenes	18	0
S. sanguis (ST3)	55	0
S. sanguis (B220)	63*	0*
S. sanguis (SSH-83)	55	0
S. salivarius	36	0
E. faecalis	36	0
WC S. pyogenes	0	0
S. sanguis (ST3)	50	0
S. sanguis (B220)	13	0
S. sanguis (SSH-83)	50	0
S. salivarius	25	0
E. faecalis	63	0

*p<0.05

表5 ブリックテスト発赤径

抗原	ペーチェット病患者 mean±S.D. (mm)	対 照 mean±S.D. (mm)
Staphylococcus aureus	0.3±0.4	0.0±0.0
Staphylococcus epidermidis	0.3±0.4	0.0±0.0
Escherichia coli	13.0±5.6	6.4±6.8
Klebsiella pneumoniae	6.3±2.8	4.5±5.0
Acinetobacter calcoaceticus subspecies anitratus	8.0±6.8	0.0±0.0
Propionibacterium acnes	3.4±2.8	0.0±0.0

p : N.S.

照群とも全く反応しなかった(表2)。

ブリックテストの結果は、Rantz-Randall法では *S. sanguis* ST3で、Crude cell wallでは全ての抗原で、そしてWhole cellでは *S. sanguis* ST3, *S. sanguis* SSH-83, *S. salivarius*, *E. faecalis* において患者群で有意の反応亢進がみられた(表3)。次に、膿疱の有無を調べたところ、Crude cell wallの全ての抗原とWhole cellの *S. pyogenes* 以外の抗原において患者群で高い膿疱陽性率を示した(表4)。連鎖球菌以外の細菌抗原を用いたブリックテストでは、患者群で多少反応亢進傾向がみられたものの、有意差を示すものはみられなかった(表5)。皮内反応同様に生理食塩水では全く反応がみられなかった。

IV 考 按

われわれはこれまでにペーチェット病患者の口腔内細菌叢の検索をおこない、患者群では対照群に比し *S. sanguis* が高率に分離されること⁷⁾、その血清型はATCC標準株とは異なり川崎病由来のMCLS-1と同じ血清型のもとペーチェット病患者由来の新しい血清型の2種類に分けられ、ATCC標準株以外の血清型では患者は健常人よりも高い抗体価を示すこと⁸⁾を明らかにしてきた。また、ペーチェット病患者では扁桃炎や歯などの連鎖球菌感染と思われる既往が明らかに多く⁹⁾、さらに抜歯などで発作が誘発されることがあり、連鎖球菌が外因として重要な役割を果たしていることは確実と考えられる。

今回の皮内反応では、*S. pyogenes* と *E. faecalis* の抗原を各1.0ml皮内注射した3例中2例で注射後48時間以内に眼発作が起こったが数カ月間発作がなかったことを考えると、皮内注射によって発作が誘発されたと考えるのが自然であろう。これは抜歯後に発作が起こ

るのと同様に連鎖球菌または連鎖球菌抗原が血中にはいり感作が起こり発作が誘発されたと考えられる。また、*E. faecalis* では患者群で有意の皮膚反応亢進を示し、*S. pyogenes* では患者群と対照の間に反応の差はみられなかったが、同じ抗原を用いて *S. pyogenes* のみの皮内注射でも発作の誘発された報告例¹⁰⁾があり、*S. pyogenes* にも十分抗原性があると思われた。

次に、プリックテストでは全ての抗原で反応亢進がみられ、特に *S. sanguis*, *S. salivarius*, *E. faecalis* により強い反応がみられたが、これらの細菌には共通抗原性が存在している可能性があり、特に細胞壁分画より抽出した抗原で強い反応が見られたことから抗原性は主に細胞壁に存在しているものと考えられた。また、連鎖球菌以外の細菌抗原については症例数が少ないせいもあり有意差は認められなかったが、患者群では大きな発赤を示した例もみられたことから、連鎖球菌との共通抗原性の存在する可能性もあると考えられた。

なお、今回の皮内反応では24時間後と48時間後に発赤径を測定したが、患者群では全例48時間後の方が大きな発赤を示し、プリックテストでも24時間後と48時間後に測定できた患者の多くは48時間後に強い反応を示したことから、48時間後の結果をもとに検定をおこなった。また、皮内反応、プリックテストとも患者群と対照の間に年齢差が生じたが、遅延型過敏反応のひとつであるジニトロクロールベンゾールに対する接触性皮膚反応では70歳以上の高齢者では陽性率が低下するが、50歳位では著変ないようである¹¹⁾。しかし、今後は年齢を一致させて検討を加えていきたい。

これまでに連鎖球菌を用いた免疫学的研究は皮膚テストを含め数多くおこなわれてきたが、最近の報告では、1974年 Donatsky らは再発性口腔内アフタを有する患者での *S. sanguis* prototype 2A に対する血中抗体の存在と、この抗原でのアクロファージ遊走阻止試験の陽性を指摘している¹²⁾。また1978年金子らはペーチェット病患者は連鎖球菌とくに *S. viridans* に強い遅延型皮膚反応を示し、*in vitro* でもリンパ球の幼若化がみられたことを報告している¹³⁾。難波らは本症患者では溶連菌由来抗原価が有意に高く、患者血漿中に多数のL型菌を発見している¹⁴⁾。

今回のわれわれの検索でも、ペーチェット病患者は連鎖球菌抗原に対し有意の皮膚反応性亢進を示し、連鎖球菌がペーチェット病の病態に何らかの関与をしていることが示唆された。今回の成績からは連鎖球菌のうち特定の菌種を同定することはできなかったが、*S.*

sanguis により強い抗原性が認められた。しかし、PPD (purified protein derivative of tubercle bacillus) においても有意の反応亢進が認められたという報告もあり¹³⁾¹⁵⁾、皮膚被刺激性亢進による可能性を考慮しつつ、さらに細胞性免疫との関係を検討していく必要がある。

ただし、連鎖球菌がペーチェット病の発症に何らかの形で関与しているのか、あるいはこれらの現象は単にペーチェット病を発症したために起こった結果であるのかは明らかではない。従って今後は、連鎖球菌感染あるいは産生毒素により病態が形成されるのか、連鎖球菌に対するアレルギーが主体なのか、連鎖球菌が関与した自己免疫現象であるのか、あるいは二次的に連鎖球菌に対する免疫反応が亢進しているのか、などの点について解明していかなければならない。しかし、ASO, ASK は低値を示し、抗生物質による治療にも限界があり、*S. pyogenes* アレルギーでおこるリウマチ熱や糸球体腎炎および膠原病などとは免疫異常の状態がかなり異なっていることから、これまでの既知の概念にあてはめて考えることはできないのかもしれない。また、ペーチェット病患者の中での反応の差、つまり連鎖球菌の感作を受けやすいかどうかを内因すなわちHLA-B51との関連で解明できるかどうか、あるいはシクロスポリン内服により連鎖球菌に対する反応の低下がみられるかどうか、などの点について今後さらに検討する必要があると考えている。

文 献

- 1) Gilbert W: Über die rezidivierende eitrige Iridozyklitis und ihre Beziehungen zur septischen Allgemeinerkrankung. Arch f Augenh 86: 29-49, 1920.
- 2) 氏原 弘: Behçet 氏症候群の細菌学的研究. 東京医学会雑誌 66: 414-424, 1958.
- 3) 萩原 朗: ペーチェット症候群に就いて. 日眼会誌 63: 1504-1517, 1959.
- 4) Barile MF, Graykowski EA, et al: L form of bacteria isolated from recurrent aphthous stomatitis lesions. Oral Surg 16: 1395-1401, 1963.
- 5) 浦山 晃: 葡萄膜炎の病因と病理—主として病因について—. 日眼会誌 64: 2263-2301, 1960.
- 6) 杉浦清治, 大口正樹, 大野重昭: ペーチェット病と連鎖球菌アレルギー, 白血球遊走阻止試験による検討. 厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班, 昭和52年度研究業績, 58-60, 1978.
- 7) 大野重昭: ペーチェット病における口腔内細菌叢の検索. 厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究

- 班, 昭和61年度研究業績, 139—141, 1987.
- 8) 小熊恵二: ペーチェット病から分離された *Streptococcus sanguis* の諸性状について, 厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班, 昭和62年度研究業績, 57—58, 1988.
 - 9) 青木功喜, 大野重昭: ペーチェット病患者の体質と既往歴, 日眼会誌 76: 1608—1612, 1972.
 - 10) 水島 裕, 星 恵子, 松田隆秀, 他: 抜歯および連鎖球菌皮膚テストによる症状誘発, 最新医学 43: 279—283, 1988.
 - 11) 岸本 進, 藤井 隆: 加齢・性差と免疫応答, 日本臨床 42 (春季臨時増刊号): 882—889, 1984.
 - 12) Donatsky O, Dabelsteen E: An immunofluorescence study on the humoral immunity to *Strep. 2A* in recurrent aphthous stomatitis. *Acta Pathol Microbiol Scand (B)* 82: 107—112, 1974.
 - 13) 金子史男, 金田考道, 大西 修, 他: Behçet 病における細菌アレルギー, アレルギー 27: 440—451, 1978.
 - 14) 難波克彦, 沖田美智, 弓田 彰, 他: ペーチェット病と溶連菌感染, 日眼会誌 87: 1112—1120, 1983.
 - 15) 広瀬茂人, 大野重昭: 内因性ぶどう膜炎における遅延型皮内反応の検討, 日眼会誌 88: 247—250, 1984.
-