

ベーチェット病の化膿レンサ球菌L型菌および 黄色ブドウ球菌L型菌に対する血清抗体価

—他のぶどう膜炎との比較—

難波 克彦¹⁾, 小川 智美¹⁾, 西山 彌生²⁾, 沢田 和江³⁾

¹⁾帝京大学溝口病院眼科, ²⁾帝京大学医真菌研究センター, ³⁾帝京大学医学部細菌学教室

要 約

ベーチェット病患者28例と他のぶどう膜炎患者31例(サルコイドーシス10例, 原田病5例, 結核4例, 慢性関節リウマチ4例, 梅毒2例, 若年性関節リウマチ2例, 単純ヘルペス2例, 外傷2例)および健常人対照16例を対象に, ペニシリンディスク法で誘導した化膿レンサ球菌および黄色ブドウ球菌の各L型菌に対する血清抗体価をELISA法により測定した。ベーチェット病の化膿レンサ球菌L型菌に対する抗体価は, 対照, 慢性関節リウマチ, サルコイドーシス, 結核, 原田病より有意に低かった(t検定)。ベーチェット病の黄色ブドウ球菌L型菌に対する抗体価は, 対照および他のぶどう膜炎との間に差がみられなかった。各L型菌に対する抗体価は, ベーチェット病以外の各ぶどう膜炎と対照, すべてのぶどう膜炎の活動期と非活動期の間に差がなかった。ベーチェット病では, 化膿レンサ球菌L型菌に対する抗体産生が特異的に障害されている可能性がある。(日眼会誌 96:1286-1289, 1992)

キーワード: ベーチェット病, ぶどう膜炎, 化膿レンサ球菌L型菌, 黄色ブドウ球菌L型菌, 抗体産生

Antibody Titer to Streptococcal and Staphylococcal L-Form in Behçet's Disease and Other Uveitis

Katsuhiko Namba¹⁾, Tomomi Ogawa¹⁾, Yayoi Nishiyama²⁾ and Kazue Sawada³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Teikyo University Mizonokuchi Hospital

²⁾Teikyo University Research Center for Medical Micology

³⁾Department of Bacteriology, Teikyo University School of Medicine

Abstract

The antibody titer in serum to *Streptococcus pyogenes* L-form and *Staphylococcus aureus* L-form were determined by enzyme-linked immunosorbent assay in 28 patients with Behçet's disease, 31 patients with other uveitis (sarcoidosis: 10, Harada's disease: 5, tuberculosis: 4, rheumatoid arthritis: 4, lues: 2, juvenile rheumatoid arthritis: 2, herpes simplex: 2, trauma: 2) and 16 healthy normal controls. All L-forms were induced by the penicillin disk method. The antibody titer to *Streptococcus pyogenes* L-form in Behçet's disease was lower than that of other cases of uveitis and controls, and showed significant differences between controls, rheumatoid arthritis, sarcoidosis, tuberculosis and Harada's disease by the Student's t-test. The antibody titer to *Staphylococcus aureus* L-form in Behçet's disease showed no difference between controls and other cases of uveitis.

別刷請求先: 213 川崎市高津区溝口74 帝京大学溝口病院眼科 難波 克彦
(平成3年3月9日受付, 平成4年4月14日改訂受理)

Reprint requests to: Katsuhiko Namba, M.D. Department of Ophthalmology, Teikyo University Mizonokuchi Hospital, 74 Mizonokuchi, Takatsu-ku, Kawasaki 213, Japan

(Received March 9, 1991 and accepted in revised form April 14, 1992)

In each uveitis and controls, and between active and inactive stages of all uveitis, there were no differences between titers. In Behçet's disease, antibody formation to *Streptococcus pyogenes* L-form may be specifically disturbed. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96 : 1286-1289, 1992)

Key words : Behçet's disease, Uveitis, *Streptococcus pyogenes* L-form, *Staphylococcus aureus* L-form, Antibody formation

I 緒 言

ベーチェット病では、病因として化膿レンサ球菌の関与が考えられているが^{1)~3)}、患者血中の本菌に対する抗原価が高いにもかかわらず^{1)~3)}、種々の血清抗体価は低いことから^{4)~6)}、本病では、本菌に対する抗体産生の障害されていることが考えられる。一方、患者の血液中には、本菌のL型菌と思われる菌体が観察されており^{1)~3)6)}、この異常な免疫応答に化膿レンサ球菌L型菌が関与している可能性が考えられる。前報⁷⁾では、ベーチェット病の化膿レンサ球菌L型菌に対する血清抗体価が有意に低く、黄色ブドウ球菌L型菌に対する抗体価には差がないことを報告した。今回は、他のぶどう膜炎の抗体価についても検討し、ベーチェット病における化膿レンサ球菌L型菌の病因論的意義について考察した。

II 実験方法

対象は、ベーチェット病患者28例と、他のぶどう膜炎患者31例(サルコイドーシス10例、原田病5例、結核4例、慢性関節リウマチ4例、梅毒2例、若年性関節リウマチ2例、単純ヘルペス2例、外傷2例)および健常人対照16例である(表1)。

L型菌の誘導⁸⁾⁹⁾および抗原の調整は前報と同様⁷⁾に行い、抗体価の測定は、若干の改良を加え以下の要領で行った。

化膿レンサ球菌L型菌、黄色ブドウ球菌L型菌の各抗原液を炭酸・重炭酸緩衝液(pH 9.6)で各々300倍、800倍に希釈し、EIAマイクロプレート(Microwell module U-16®: Nunc社, Roskild, デンマーク)の各穴に100 µlずつ加えて遮光し、4℃で一晩静置し吸着させた。吸着後、リン酸緩衝食塩水(PBSと略す、pH 7.2)にTween 20®(Tと略す、和光純薬、大阪)を加えたPBS-Tで洗浄した。被検血清は、PBS-Tにウシ血清アルブミン(BSA)を加えた1%PBS-T-BSAを用い、化膿レンサ球菌L型菌抗原および黄色ブドウ球菌L型菌抗原をそれぞれ100倍、200倍に希釈し、各

表1 対 象

	症例数	検体数(活動期, 非活動期)	
		活動期	非活動期
ベーチェット病	28	41(21)	20)
サルコイドーシス	10	11(7)	4)
原田病	5	5(5)	0)
結核	4	4(4)	0)
慢性関節リウマチ	4	4(4)	0)
梅毒	2	2(2)	0)
若年性関節リウマチ	2	2(2)	0)
単純ヘルペス	2	2(2)	0)
外傷	2	2(2)	0)
対照	16	16	

穴に100 µlずつ加え室温で1時間反応させた。PBS-Tで洗浄後、1%PBS-T-BSAで2,500倍に希釈したペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG抗体(ICN社:Lisle, イスラエル)を各穴に100 µl加え、室温で1時間反応させた。PBS-Tで洗浄後、0-フェニレンジアミン(東京化成、東京)0.1 mg/ml、過酸化水素0.003%、0.1 Mクエン酸、0.1 Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH 4.8)を各穴に100 µlずつ加え、室温で30分反応させた。

4 N H₂SO₄を各穴に50 µlずつ加え反応を停止させた後、マイクロプレートオトリーダー(ELISAプロセッサII®)(Behring社:Marburg, 西独)を用い、第一波長492 nm、第二波長650 nmで測定した吸光度を血清抗体価とした。有意差検定は、Studentのt検定により行った。

III 結 果

表2に、対象の全検体の化膿レンサ球菌L型菌に対する血清抗体価の平均値と標準偏差を示す。ベーチェット病の血清抗体価は、他のぶどう膜炎や対照より低く、サルコイドーシス、慢性関節リウマチと1%、原田病、結核と5%、対照と0.1%の危険率で有意差が認められた。ベーチェット病以外の各ぶどう膜炎と対照、各ぶどう膜炎の活動期と非活動期の間に差は見られなかった。ベーチェット病およびサルコイドーシスでは同一人の複数の検体が含まれているので、その影

表2 全検体の化膿レンサ球菌L型菌に対する血清抗体価

	検体数	最大値, 最小値	平均値±標準偏差
ペーチェット病	41	0.354-1.352	0.742±0.235
サルコイドーシス	11	0.624-1.408	1.019±0.270**
原田病	5	0.822-1.098	0.989±0.112***
結核	4	0.914-1.050	0.966±0.059***
慢性関節リウマチ	4	0.878-1.371	1.106±0.209**
梅毒	2	0.862-1.215	1.039±0.250
若年性関節リウマチ	2	1.036-1.054	1.045±0.013
単純ヘルペス	2	1.106-1.152	1.129±0.023
外傷	2	0.815-1.149	0.982±0.236
対照	16	0.472-1.274	0.972±0.166*

* : p<0.001, ** : p<0.01, *** : p<0.05

表3 初回検体の化膿レンサ球菌L型菌に対する血清抗体価

	検体数	平均値±標準偏差
ペーチェット病	28	0.764±0.251
サルコイドーシス	10	1.000±0.292**
原田病	5	0.989±0.112
結核	4	0.966±0.059**
慢性関節リウマチ	4	1.106±0.209**
梅毒	2	1.039±0.250
若年性関節リウマチ	2	1.045±0.013
単純ヘルペス	2	1.129±0.023
外傷	2	0.982±0.236
対照	16	0.972±0.166*

* : p<0.01, ** : p<0.05

表4 全検体の黄色ブドウ球菌L型菌に対する血清抗体価

	検体数	最大値, 最小値	平均値±標準偏差
ペーチェット病	41	0.830-1.859	1.620±0.246
サルコイドーシス	11	1.388-1.893	1.728±0.172
原田病	5	1.344-1.706	1.603±0.186
結核	4	1.655-1.781	1.729±0.055
慢性関節リウマチ	4	1.338-1.800	1.552±0.197
梅毒	2	1.778-1.872	1.825±0.066
若年性関節リウマチ	2	1.739-1.845	1.792±0.075
単純ヘルペス	2	1.637-1.727	1.682±0.064
外傷	2	1.580-1.675	1.628±0.067
対照	16	0.922-1.883	1.692±0.218

響を避けるため、次に初回測定値について比較した。その結果、ペーチェット病の血清抗体価は他のぶどう膜炎や対照より低く、サルコイドーシス、結核、慢性関節リウマチと5%、対照と1%の危険率で有意差が認められた(表3)。

表5 初回検体の黄色ブドウ球菌L型菌に対する血清抗体価

	検体数	平均値±標準偏差
ペーチェット病	28	1.610±0.255
サルコイドーシス	10	1.760±0.155
原田病	5	1.603±0.186
結核	4	1.729±0.055
慢性関節リウマチ	4	1.552±0.197
梅毒	2	1.825±0.066
若年性関節リウマチ	2	1.792±0.075
単純ヘルペス	2	1.682±0.064
外傷	2	1.628±0.067
対照	16	1.692±0.218

表4に、対象の全検体の黄色ブドウ球菌L型菌に対する血清抗体価を示す。ペーチェット病、他のぶどう膜炎および対照の間にいずれも差は認められず、また各ぶどう膜炎の活動期と非活動期にも差はみられなかった。初回測定値についても同様であった(表5)。

IV 考 按

これまで我々は、ペーチェット病の化膿レンサ球菌に対する血清抗体価について検討し、本病患者では、血漿中の本菌に由来する抗原価が健常人に比べ有意に高いにもかかわらず^{1)~3)}、本菌に対する抗体価は低い傾向がみられることを明らかにしてきた^{4)~6)}。

すなわち、化膿レンサ球菌感染の指標として広く用いられている血清抗体の一つである anti-streptolysin O (以下ASOと略す)は、本病では健常人よりも有意に低い値を示した⁴⁾。また、ASOと同様化膿レンサ球菌の菌体外酵素に対する抗体である anti-streptokinase も本病では健常人に比べ有意に低かった⁴⁾。さらに、本菌の菌体成分そのものに対する抗体である血清の anti-streptococcal polysaccharide も本病では健常人よりも有意に低かった⁵⁾。また、Rantz-Randall法によりオートクレーブで抽出した化膿レンサ球菌抗原に対する抗体価についても同様の傾向がみられた⁶⁾。

ところで、化膿レンサ球菌は、患者の既往歴その他から本病に密接に関連していると思われるが¹⁾¹⁰⁾、化膿レンサ球菌そのものはこれまで患者の血液からも咽頭からも培養されていない。一方、患者血液中には、化膿レンサ球菌L型菌と考えられる細菌が観察されており^{1)~3)6)}、また我が国では、細菌の細胞壁合成阻害剤であるペニシリンなどのβ-ラクタム系抗生剤の使

用量の増加と本病患者の増加とがほぼ同時期に始まっている¹¹⁾。これらのことから、本病の原因を考える上で、化膿レンサ球菌そのものよりそのL型菌の役割が重要であると思われる¹²⁾¹³⁾。

近年、*Streptococcus sanguis* が本病の病因の1つとして注目されているが¹⁴⁾、これに由来するL型菌が存在するならば、それが本菌に関係している可能性も考えられる。

今回、抗体価の測定方法に若干の改良を加えたが、前回と同様に化膿レンサ球菌L型菌に対するペーチェット病の抗体価は、他のぶどう膜炎や健康人より低く、黄色ブドウ球菌L型菌に対する抗体価には差のないことが明らかになった。このことから、ペーチェット病では、化膿レンサ球菌ばかりでなく、そのL型菌に対しても特異的に抗体産生が障害されている可能性がある。その理由として次のようなことが考えられる。本病患者は、既往歴からも明らかなように、化膿レンサ球菌に感染しやすい素因をもっていると思われるが、そのため小児期からの本菌による扁桃炎や上気道感染および慢性的な歯牙疾患などにより、口腔内病巣が成立し、相対的な抗体産生の不足を来す可能性がある。一方、 β -ラクタム系抗生剤の頻用により化膿レンサ球菌がそのL型菌に変化しているとすれば、細胞壁をもたないL型菌は細胞壁抗原がないため、個体のリンパ球による認識はかなり低下するはずである。また、抗体産生は正常でも、特異的な阻止抗体の存在や、過剰な菌体抗原から免疫複合体などが産生され、L型菌に対して抗体価が低くなっていることも考えられる。

このように、ペーチェット病にみられる化膿レンサ球菌L型菌に対する抗体価が低値を示すことは、本病と本菌の関連を強く示唆しており、本病の病因を考える上で、本菌に対する特異的な免疫応答の異常が大きな役割を担っているものとおもわれる。

(本研究の一部は、財団法人仁和会の研究費助成を受けた)

文 献

1) 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—溶連菌由来抗原価の測定. 日眼会誌 87: 1112—1120, 1983.

- 2) 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—溶連菌抗原価の経時的変化および他のブドウ膜炎との比較. 日眼会誌 89: 200—207, 1985.
- 3) Namba K, Ueno T, Okita M, et al: Behçet's disease and streptococcal infection. Jpn J Ophthalmol 30: 385—401, 1986.
- 4) 難波克彦, 沖田美智, 山下英俊, 他: ペーチェット病の抗ストレプトリジンOと抗ストレプトキナーゼ. 眼紀 38: 565—568, 1987.
- 5) 小川智美, 難波克彦: ペーチェット病の血清ASP. 眼臨 82: 2449—2451, 1988.
- 6) 難波克彦: ペーチェット病の抗溶連菌抗体価. 日眼会誌 92: 269—273, 1988.
- 7) 小川智美, 難波克彦, 西山彌生, 他: ペーチェット病化膿連鎖球菌L型菌および黄色ブドウ球菌L型菌に対する血清抗体価. 日眼会誌 94: 408—412, 1990.
- 8) 江田 亨, 田所一郎: A群溶連菌L-formの生成と形態. 日細誌 27: 517, 1971.
- 9) 江田 亨, 松岡俊介, 田所一郎: ブドウ球菌L-formに関する研究. I. ブドウ球菌L-formの誘導と固型培地上の形態について. 日細誌 27: 657—664, 1972.
- 10) Nakae K, Agata T, Maeda K, et al: Case Control Studies on Behçet's Disease, in Inaba G (ed): Behçet's Disease, Tokyo, University of Tokyo Press, 41—49, 1982.
- 11) Mishima S, Masuda K, Izawa Y, et al: Behçet's disease in Japan: Ophthalmologic aspects. Trans Am Ophthalmol Soc 77: 225—279, 1979.
- 12) 江田 亨, 西山彌生: 細菌L-formの形態学. I 一般構造と細胞内膜様構造. 帝京医誌 8: 199—209, 1985.
- 13) 江田 亨: 細胞壁欠損菌, とくにL型菌の病原的意義. 日本臨床 39: 2343—2348, 1981.
- 14) 西山彌生, 江田 亨: 細菌L-formの性状と微細構造. 細胞 16: 22—30, 1984.