

眼底疾患における硝子体の免疫抑制酸性蛋白

竹田 洋介¹⁾, 山口 克宏¹⁾, 石黒 誠一¹⁾, 田村 啓二²⁾, 玉井 信¹⁾

¹⁾東北大学医学部眼科学教室, ²⁾細菌化学研究所

要 約

血清免疫抑制酸性蛋白 (IAP) は腫瘍や炎症のマーカーとして、臨床的に有用とされている。我々は先に、IAPが活動期ベーチェット病および眼外に播種がみられる網膜芽細胞腫で高値を示すことを報告した。今回さらに、硝子体手術に際して得られた増殖性硝子体網膜症 (PVR) 5例、網膜中心静脈分枝閉塞症 (BRVO) に続発した硝子体出血4例、Terson症候群1例、増殖糖尿病網膜症 (PDR) 4例、桐沢型ぶどう膜炎5例の計19例の硝子体に含まれるIAPを一元放射免疫拡散法により測定した。硝子体IAP値は5~130 $\mu\text{g/ml}$ と疾患により差がみられた。最も正常に近いと考えられる非炎症性の硝子体出血群に比べ、PDR ($p < 0.05$) および桐沢型ぶどう膜炎 ($p < 0.01$) で有意に高かった。これらのいずれの症例においても、血清IAP値は異常値を示したものは1例も無く、眼内局所におけるIAPの上昇すなわち suppressor macrophage の活性化ないしは多核白血球の眼内への遊走をうかがわせた。(日眼会誌 96: 506-510, 1992)

キーワード：硝子体免疫抑制酸性蛋白, 増殖性網膜硝子体症, 網膜中心静脈分枝閉塞症, 増殖糖尿病網膜症, 桐沢型ぶどう膜炎

The Immunosuppressive Acidic Protein in the Vitreous of Fundus Diseases

Yosuke Takeda¹⁾, Katsuhiko Yamaguchi¹⁾, Seiichi Ishiguro¹⁾,
Keiji Tamura²⁾ and Makoto Tamai¹⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine

²⁾Saikin Kagaku Institute Company Limited

Abstract

Immunosuppressive acidic protein (IAP) is known to be a useful marker for malignant tumors and inflammatory diseases. We have previously reported that serum IAP level was increased in cases of Behçet's disease, especially in the acute phase, and those of retinoblastoma with extraocular infiltration. We assayed IAP levels in the vitreous body of various ocular diseases, including five cases of proliferative vitreoretinopathy (PVR), five cases of vitreous hemorrhage including four cases of branch retinal vein occlusion (BRVO) and one case of Terson's syndrome, four cases of proliferative diabetic retinopathy (PDR) and five cases of acute retinal necrosis syndrome. The single radial immunodiffusion method was used. The vitreous IAP level ranged from 5 to 130 $\mu\text{g/ml}$ according to each case. Statistical analysis revealed that the vitreous IAP level was significantly higher in the group of PDR ($p < 0.05$) and in the group of acute retinal necrosis syndrome ($p < 0.01$) compared to the group of vitreous hemorrhage. In all cases, serum IAP levels were within normal limits. These results

別刷請求先：980 仙台市青葉区星陵町1-1 東北大学医学部眼科学教室 竹田 洋介

(平成3年4月19日受付, 平成3年8月31日改訂受理)

Reprint requests to: Yosuke Takeda, M.D. Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980, Japan

(Received April 19, 1991 and accepted in revised form August 31, 1991)

suggested that IAP might be produced within the ocular tissue, possibly by the activation of suppressor macrophages and migration of polymorphonuclear leukocytes in the vitreous with pathologic condition. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 506-510, 1992)

Key words: Vitreous immunosuppressive acidic protein, Proliferative vitreoretinopathy, Retinal branch vein occlusion, Proliferative diabetic retinopathy, Acute retinal necrosis

I 緒 言

免疫抑制酸性蛋白 (immunosuppressive acidic protein: IAP) は, 石田ら¹⁾, 田村ら²⁾によって癌患者腹水, 血清より分離された α_1 -酸性糖蛋白の一分画であり, 腫瘍マーカーのひとつとして臨床的に利用されている³⁾. また, 血清 IAP は生理的に体内において副腎皮質ステロイドホルモンと鏡像を示すような日内変動を示すことが明らかにされている⁴⁾. さらに, 各種疾患との関係では悪性腫瘍のみならず自己免疫性疾患や炎症性疾患においても高値を示し¹⁾²⁾, 各種癌治療の効果判定, 術後経過の観察に有用とされ, 眼科領域においてもペーチェット病で特にその活動期に一致して血清 IAP 値が高値を示すことが報告され⁵⁾⁶⁾, また網膜芽細胞腫で上昇することが示されている⁷⁾.

今回我々は, 種々の眼底疾患の硝子体手術時に得られた硝子体中に含まれる IAP 値を測定した. その結果硝子体 IAP は硝子体内増殖やある種の眼内炎症で増加することが明らかとなった.

II 実験方法

対象は東北大学医学部附属病院眼科で手術された症例のうち, 硝子体手術を必要とした増殖性硝子体網膜症 (proliferative vitreoretinopathy: PVR) 5 例, 網膜中心静脈分枝閉塞症 (branch retinal vein occlusion: BRVO) に続発した硝子体出血 4 例, Terson 症候群 1 例, 増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy: PDR) 4 例, 桐沢型ぶどう膜炎 5 例についてその手術の際に硝子体液を採取した. また, 硝子体液採取時の血清 IAP も測定した.

硝子体液採取の方法を略述すると, 硝子体手術の際に灌流口, 硝子体切除器, 光ファイバーの三者を眼球に装着後, 灌流液による灌流を始める前に, 硝子体収集用ボトルを硝子体切除器の吸引チューブの途中に取り付け, 空気灌流下に硝子体を採取した⁸⁾. この方法で硝子体は灌流液により薄まることなく安全に採取することができた. 硝子体採取については術前に患者に説

明し, 同意を得た.

IAP 量は一元放射免疫拡散 (SRID) 法にて測定した. 血清の測定には市販の IAP プレートを用いた. 硝子体液の測定には今回新たに作成した low level IAP プレートをを用いた. これは抗ヒト IAP ヤギ血清 (抗体価 1:320) を含む寒天平板で一枚のプレートに直径 4 mm の試料注入穴を 10 穴明けてあり, この穴に試料を 15 μ l ずつ注入し 36°C 48 時間反応させ, 沈降輪を形成させた. 沈降輪の直径を測定し基準液 (IAP 濃度 5, 10, 20, 40 μ g/ml) の測定値から検量線をひき, 試料 1 ml 当たりの IAP 値を求めた. 市販 IAP プレート, low level IAP プレートの測定範囲は, それぞれ 30~1,500 μ g/ml, 3~100 μ g/ml である. 測定限界以下の場合には 3 μ g/ml として統計的に処理した. 硝子体液について

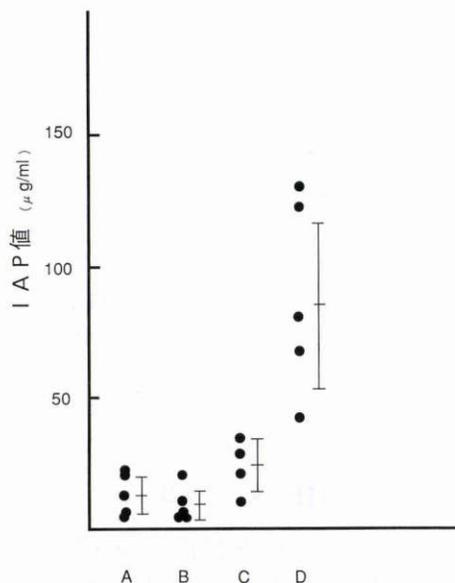


図1 各疾患群における硝子体免疫抑制酸性蛋白 (IAP) 値.

A: 増殖硝子体網膜症, B: 網膜中心静脈分枝閉塞症, Terson 症候群, C: 増殖糖尿病網膜症, D: 桐沢型ぶどう膜炎
バーは標準偏差を示す.

表1 各疾患群における硝子体 IAP 値, 硝子体蛋白量, 血清 IAP 値

症 例	性別	年齢	硝子体 IAP 値 μg/ml*	硝子体蛋白量 μg/ml	IAP%	血清 IAP 値 μg/ml
A 増殖性硝子体網膜症	1 男	58	3	760	0.39	—
	2 女	68	10	1,040	0.95	—
	3 男	55	5	600	0.88	300
	4 男	53	20	5,890	0.34	300
	5 女	70	22	2,000	1.01	380
平均值		60.8	12.0*	2,058*	0.71	327
標準偏差		7.73	8.63	2,210	0.32	46.2
B 硝子体出血						
網膜中心静脈分枝閉塞症	1 男	68	19	6,770	0.28	220
	2 男	73	9	2,010	0.45	240
	3 女	61	6	1,310	0.46	310
	4 男	59	3	600	0.50	280
	男	52	3	370	0.80	330
平均值		62.6	8.0***	2,212*	0.50	276
標準偏差		8.14	6.63	2,628	0.19	46.2
C 増殖糖尿病網膜症						
1 女	2 男	47	28	5,330	0.53	270
	3 男	51	35	4,400	0.80	380
	4 女	54	21	1,875	1.112	360
	2 男	47	28	5,330	0.53	270
3 男	51	35	4,400	0.80	380	
4 女	54	21	1,875	1.112	360	
平均值		53.5	23.75*	3,451*	0.74	310
標準偏差		6.35	10.24	1,681	0.29	71.6
D 桐沢型ぶどう膜炎						
1 女	2 男	58	42	15,860	0.51	380
	3 男	57	120	9,010	0.53	380
	4 男	19	130	21,600	0.56	320
	5 女	47	67	18,500	0.60	320
	1 女	56	81	81	81	0.51
2 男	58	42	15,860	15,860	0.51	380
3 男	57	120	9,010	9,010	0.53	380
4 男	19	130	21,600	21,600	0.56	320
5 女	47	67	18,500	18,500	0.60	320
平均值		47.4	88.0	16,243	0.55	350
標準偏差		16.47	36.72	5,362	0.04	34.6

IAP: 免疫抑制酸性蛋白

*桐沢型ぶどう膜炎群と有意差を $p < 0.01$ で認めるもの。**糖尿病網膜症群と有意差を $p < 0.05$ で認めるもの。

は Lowry 法により蛋白量を測定し, 蛋白量当たりの IAP 値 (IAP%: 硝子体液 IAP 値/硝子体蛋白量 \times 100) を求めた。

統計学的有意差の検定は, Student-t-test により行った。

III 結 果

各症例についての硝子体 IAP 値, 硝子体蛋白量, IAP%, 血清 IAP 値を表 1, 硝子体 IAP 値を図 1 に示す。

各疾患群における硝子体 IAP 値に差がみられた。PVR, BRVO, PDR の非炎症性疾患各群と比較して, 桐沢型ぶどう膜炎では有意に高かった ($p < 0.01$)。さらに, BRVO は PDR に比し, 有意に低値を示した

($p < 0.05$)。しかし, IAP 値を蛋白量当たりでみた IAP% では各疾患の間に有意差は認められなかった。

血清 IAP 値では, 全例 220~380 $\mu\text{g/ml}$ であり, 全身疾患において求められている異常値 500 $\mu\text{g/ml}$ をこえるものは無く, また調べられた眼疾患による差も認められなかった。

IV 考 按

今回我々は, 硝子体液 IAP の測定に市販されているものを微量測定用に改良した low level IAP プレートによる SRID 法を用いた。この方法は手技が簡便であり, また測定に必要な検体量も 15 μl とごく少量ですむことから, わずかしか検体をえられない眼内液の場合に適していると思われる。但し, 測定範囲が 3~100

$\mu\text{g/ml}$ であり、検体中の IAP 濃度がそれ以下でもあるいは大きくこえた場合でも沈降輪は形成されない。検体中の蛋白量が $30,000 \mu\text{g/ml}$ を越えるような高値の場合、IAP 量が高すぎる可能性があるので、市販 IAP プレート、あるいは ELISA 法などの他の方法で測定し直す必要がある。

IAP は分子量 $50,000$ 、等電点 3.0 、糖含量 31.5% の α_1 -酸性糖蛋白の一分画であり、*in vitro* ではリンパ球幼若化反応、リンパ球の混合培養反応の抑制、*in vivo* では液性抗体産生の抑制、遅延型アレルギー反応の抑制、腫瘍増殖促進作用、サプレッサーマクロファージの誘導といった生物学的作用が知られており、産生細胞はマクロファージ、多核白血球、肝細胞とされている³⁾。

局所における IAP の測定およびその意義については、Seki ら⁹⁾が脳脊髄液について報告している。彼らによると、正常者の脳脊髄液における IAP 値、IAP%(脳脊髄液 IAP 値/脳脊髄液アルブミン量 $\times 100$)の平均値はそれぞれ $1.66 \mu\text{g/ml}$ 、 0.64 であったという。また、いくつかの神経疾患についても測定し、活動期の神経ベーチェット病、活動期および寛解期の多発性硬化症で脳脊髄液中の IAP 値、IAP%とも上昇し、その平均値は IAP 値についてそれぞれ 6.59 、 3.91 、 $3.50 \mu\text{g/ml}$ 、IAP%について 1.50 、 1.65 、 1.23 であったと報告し、多発性硬化症では寛解期から活動期に向かったの脳脊髄液 IAP 値の上昇は、血清 IAP 値および脳脊髄液蛋白量の上昇に比して大きく、血液からの浸出だけでなく血液脳関門内での IAP 産生の可能性を述べている。神経ベーチェット病でも、寛解期に脳脊髄液 IAP 値が著明に低下しても血清 IAP 値は比較的高い値を示し、中枢神経内では IAP は独立した動きをすることが報告されている¹⁰⁾。

今回の硝子体 IAP の測定では、BRVO や Terson 症候群に由来する単純な出血に比し PDR で有意の差を示した($p < 0.05$)。PDR では毛細血管の透過性の亢進等、血液網膜柵および血液房水柵の破綻によるものの影響が大きいと思われる。眼内での抗体等の産生についての報告では¹²⁾¹³⁾、血清中から血液網膜柵を通過してくるものの指標として、分子量が小さく、眼内で産生されないアルブミンを用いた方が、眼内産生を見る場合、偽陰性が少ないといわれている¹³⁾。今回は行わなかったが、血液網膜柵の破綻を示すものとしてアルブミンを用い、アルブミン当たりの IAP%を求めることで IAP の眼内での産生を明らかにすることができる

かもしれない。

非炎症性疾患で IAP 値は全例 $35 \mu\text{g/ml}$ 以下であるのに対して、桐沢型ぶどう膜炎では平均で $93.3 \mu\text{g/ml}$ 、最高値 $130 \mu\text{g/ml}$ と有意に高い値を示した ($p < 0.01$)。桐沢型ぶどう膜炎では硝子体蛋白量が有意に高く、血液網膜柵の広範な障害が大きな要因と考えられる。しかし、血液網膜柵、血液房水柵が破壊される PDR に比較し、桐沢型ぶどう膜炎は有意に高値であった ($p < 0.01$)。一方、IAP は好中球およびマクロファージで産生されることが知られている。また、網膜や毛様体に炎症が存在すると、硝子体ではヒアルロン酸網の崩壊や、顆粒状物質の沈着、マクロファージの浸潤などが観察される。特に、桐沢型ぶどう膜炎の硝子体でも認められる細胞は主としてマクロファージであることが報告されている¹¹⁾。これらのことから、桐沢型ぶどう膜炎において IAP は眼内で主にマクロファージにより局所的に産生され、一連の炎症に関与している可能性も考えられる。

このように IAP は種々の網膜硝子体疾患の硝子体に存在し変化を示すことから、硝子体のひとつの重要な構成蛋白であることが示唆された。

文 献

- 1) 石田名香雄, 田村啓二, 柴田芳美: 免疫抑制酸性蛋白の性状と癌患者における測定意義. 医学のあゆみ 115: 423-432, 1980.
- 2) 田村啓二, 柴田芳美, 石田名香雄: 免疫抑制酸性蛋白. 第5回阿蘇シンポジウム, 癌と免疫, 東京, 南山堂, 57-71, 1982.
- 3) 田村啓二: IAP の測定とその臨床的意義. 血清反応のあゆみ. 東京都臨床衛生検査技会一血清検査研修会記録 8: 194-218, 1986.
- 4) Tamai M, Yamaguchi K: Diurnal variation of immunosuppressive acidic protein. Jpn J Ophthalmol 34: 196-199, 1990.
- 5) 山口克宏, 横山尚彦, 菅野陳一郎, 他: ぶどう膜炎患者の血清免疫抑制酸性蛋白. 眼紀 38: 1829-1832, 1987.
- 6) Yamaguchi K, Yokoyama T, Kanno C, et al: Immunosuppressive acidic protein in Behçet's disease. Am J Ophthalmol 105: 213-214, 1989.
- 7) 高橋玲子, 山口克宏, 玉井 信: 網膜芽細胞腫における IAP (免疫抑制酸性蛋白) の測定. 日眼会誌 94: 593-596, 1990.
- 8) Tamai M, Nakazawa M: Collecting system to obtain vitreous humor in clinical cases. Arch Ophthalmol 109: 465-466, 1991.
- 9) Seki H, Tsukamoto T, Aso H, et al: Intrathecal synthesis of immunosuppressive acidic

protein (IAP) in patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological diseases. *J Neurol Sci* 85 : 259-266, 1988.

- 10) **Tsukamoto T, Seki H, Takase S, et al:** Significant increase in immunosuppressive acidic protein (IAP) in serum of patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological disorders. *J Neurol Sci* 75 : 353-361, 1986.
- 11) **白井正彦, 長谷見通子, 大西由子, 他:** ぶどう膜炎における硝子体の電顕的観察と免疫生化学的

析. *臨眼* 38 : 381-387, 1984.

- 12) **Danser AHJ, Deinum J, Derkx FHM, et al:** Renin, prorenin, and immunoreactive renin in vitreous fluid from eyes with and without diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 68 : 160-167, 1989.
- 13) **van der Voet JCM, Liem A, Otto AJ, et al:** Intraocular antibody synthesis during experimental uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 : 316-322, 1988.

研究. *日眼会誌* 96巻 4号 510-514頁 (1993年4月)

著者: 白井正彦, 長谷見通子, 大西由子, 他

所属: 東京大学医学部眼科

要旨: ぶどう膜炎患者の硝子体液中に免疫グロブリンや免疫反応産物が増加していることが知られている。本研究では、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) の硝子体液中の増加を電顕的および免疫生化学的に検討した。硝子体液中の IAP は、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) として知られている。硝子体液中の IAP は、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) として知られている。硝子体液中の IAP は、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) として知られている。

1) 白井正彦, 長谷見通子, 大西由子, 他 (1984) ぶどう膜炎における硝子体の電顕的観察と免疫生化学的解析. *臨眼* 38 : 381-387.

2) Tsukamoto T, Seki H, Takase S, et al (1986) Significant increase in immunosuppressive acidic protein (IAP) in serum of patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological disorders. *J Neurol Sci* 75 : 353-361.

3) Danser AHJ, Deinum J, Derkx FHM, et al (1989) Renin, prorenin, and immunoreactive renin in vitreous fluid from eyes with and without diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 68 : 160-167.

4) van der Voet JCM, Liem A, Otto AJ, et al (1988) Intraocular antibody synthesis during experimental uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 : 316-322.

5) Yamamoto H, Yonekura T, Kawanabe T, et al (1988) Immunoreactive acidic protein in vitreous fluid. *Am J Ophthalmol* 105 : 214-216.

6) Kawanabe T, Yamamoto H, Yonekura T, et al (1988) Immunoreactive acidic protein in vitreous fluid. *Am J Ophthalmol* 105 : 214-216.

7) Kawanabe T, Yamamoto H, Yonekura T, et al (1988) Immunoreactive acidic protein in vitreous fluid. *Am J Ophthalmol* 105 : 214-216.

8) Kawanabe T, Yamamoto H, Yonekura T, et al (1988) Immunoreactive acidic protein in vitreous fluid. *Am J Ophthalmol* 105 : 214-216.

9) Kawanabe T, Yamamoto H, Yonekura T, et al (1988) Immunoreactive acidic protein in vitreous fluid. *Am J Ophthalmol* 105 : 214-216.

10) Kawanabe T, Yamamoto H, Yonekura T, et al (1988) Immunoreactive acidic protein in vitreous fluid. *Am J Ophthalmol* 105 : 214-216.

研究. *日眼会誌* 96巻 4号 510-514頁 (1993年4月)

著者: 白井正彦, 長谷見通子, 大西由子, 他

所属: 東京大学医学部眼科

要旨: ぶどう膜炎患者の硝子体液中に免疫グロブリンや免疫反応産物が増加していることが知られている。本研究では、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) の硝子体液中の増加を電顕的および免疫生化学的に検討した。硝子体液中の IAP は、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) として知られている。硝子体液中の IAP は、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) として知られている。硝子体液中の IAP は、免疫抑制性酸性タンパク質 (IAP) として知られている。