

氏 名 ( 本籍 ) 佐 々 木 一 之

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 博 第 4 1 2 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 4 1 年 3 月 2 5 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当

研 究 科 專 門 課 程 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科  
( 博 士 課 程 ) 眼 科 学 專 攻

学 位 論 文 題 目 1) 螢 光 標 識 に よ る 眼 部 抗 原 抗 体 反 応 の 研 究  
2) 同 上 ( 続 報 )

( 主 査 )

論 文 審 査 委 員 教 授 桐 沢 長 徳 教 授 石 田 名 香 雄

教 授 山 根 績

## 論 文 内 容 要 旨

眼組織内における抗原抗体反応は、種々の炎症眼疾患の発生病理とも関連して、眼科領域では当前の重要な課題の一つである。従来その検索は、組織学的或は血清学的手段が主であり、直接的証明に些か欠けるところがあつた。著者は本問題解明の一法として眼組織内における抗原抗体反応の動向を蛍光標識法（一部に所謂、蛍光抗体法を用いたが、殆んどは直接追跡法である）により追跡した。

使用動物は全て成熟白色家兎である。抗原は精製牛血漿アルブミンを使用しAdjuvant加抗原として頸回筋肉内注射を行うことによつて予め全身感作をした。使用した標識蛍光色素は、主としてTetramethyl-rhodamine isothiocyanateでこれを牛アルブミンに標識した。一部試みた蛍光抗体法にはFluorescein isothiocyanateを抗兎グロブリン-山羊グロブリンに標識して使用した。実験操作後の摘出眼球は凍結切片として蛍光顕微鏡下において観察したが、ほかに普通染色をも行い組織的所見と比較検討した。

実験方法としては、上述の感作家兎の眼局所に直接抗原を注入した際の眼内抗原抗体反応の動向を見る目的で夫々前房、角膜炎、硝子体、及び脈絡膜（強膜下）に標識抗原の再注射を行つた。更には、標識抗原の再注射を血管を介して全身性に行ひ、抗原が全身性に投与された場合の眼反応を他の臓器組織との比較に於て検討を加えた。対照は各群共無感作家兎に同様の処置を加えたものを以てした。

実験成績の概要は、先ず対照にあつては何等特殊の所見を見なかつたが、予め感作を受けた家兎にあつては殆んど常に特有な蛍光顆粒状凝集物（抗原抗体複合物）の出現をみた。局所投与時の所見に就いては、先ず前房注入群では標識牛アルブミンの0.1 ml (0.6 mg)を注入したところ、抗原抗体複合物は1時間後には著明に認められ、12時間に至つてもなお僅かながら存在した。その場は房水中を主とするが、虹彩実質、時に角膜後面、水晶体前面にも見出される。対照では蛍光凝集物の出現がなく、標識牛アルブミンも6時間に至る前に前房内より消失する。前房内に抗原を注入して蛍光凝集物を得たことは、恰も試験管内に於ける沈降反応に比すべき現象である。なお一部切片につき実症した蛍光抗体法によると、無染色時にはつきりしなかつた角膜後面凝集物附着所見が極めて明瞭に、且つ局在の明らかとなつた点は、本物質が高濃度の兎γグロブリンを含むことを示唆する。しかもこの蛍光凝集物が感作家兎に限り必発していることから、本物質は抗原抗体複合物と見做すことが出来る。何れにせよこの標識法は、その鋭敏性の故に、従来はその微量なるがために、通常の血清学的手段を以てしては困難であつた房水内抗体の検出法として注目される。角膜注入群は、実質内中央部に標識抗原を0.05 ml (0.3 mg)注入した。感作眼では12~48時間に11眼中9眼に於て角膜周辺部に肉眼で可視出る線条混濁、所謂Immune corneal ringの出現を見た。その特有な形成過程は蛍光顕微鏡下ではじめて明か

にされた。即ち注入抗原は垂直な一線をなして周辺の角質縁部方向に拡散し、およそ12時間頃  
に進行が停止する。組織学的にはH・E染色でエオジン浮染の線条を認め、その両側には初期滲  
胞浸潤像があり、24時間を過ぎる頃、この部には蛍光凝集物の著明な集積を見た。これは上皮  
下よりデスメ膜まで縦走し、前述のCorneal ringを裏付けるに充分な所見である。角膜に  
おける抗体の分布は、Arthus 現象の存否とも関係して、最近議論があるが、著者は蛍光凝集  
物のあり方とその時間的経過から推して恐らく角膜周辺の血管系より来る血清由来の液性抗体が  
専ら関与するものと考え、硝子体注入群は、前房水を予め0.1~0.2ml採取し、経瞳孔的に硝  
子体中に標識抗原を0.2ml(1.2mg)注入した。注入抗原は硝子体内で拡散し、主に前方流路  
より流出する経路が見られた。複合物は12時間目には認められ5~7日目頃に最も著明となり  
10日後にもなお存在する。その所在は、硝子体全般に散在するが、特に水晶体後腔、同赤道部  
近辺に多く見られ、また水晶体後面、前房内にも認められることがある。併し網膜の外側に於て  
は認められなかつた点から推せば、注入抗原が抗体と接触する場合は、やはり硝子体にありと見  
るべきである。従つて、古来アレルギー性葡萄膜炎のモデル実験として屢々採用されている異種  
蛋白硝子体注入実験における脈絡膜等の組織病変は、今回の成績からは、一応二次的に招来され  
たものと考え。脈絡膜注入群は標識抗原を鞏膜下面に0.1ml(0.6mg)注入した。複合物は  
注入局所の脈絡膜層内に現れるが屢々注射部位よりやや隔つた後極附近や、更に反対側の脈絡膜  
にも早期より認められた。これは脈絡膜層という血管層なればこそその反応であり、ここに反応す  
る抗体も、血清抗体を主とすることが推定される。次に再注射を感作家兔の頸動脈乃至耳静脈よ  
り血行主に行つた群では、予め根部に何らの処置を施さなかつた場合でも根部では殆んど脈絡膜  
に、次いで少量ながら毛様体、虹彩に蛍光凝集物の出現を見た。これを肺、肝、腎、心臓等の体  
内諸臓器における複合物の分布状態と比較すると、これら葡萄膜における分布は量的にも相対的  
にかなり高濃なものと同定される。このことは、血行由来の抗原到達による葡萄膜炎の発生を理  
解する上に有力な根拠を与えるものである。なおこの際の凝集物は主に血管乃至毛細管腔に所在  
するものようであり、前実験同様、やはり血清抗体がその主体をなすと見做された。そこで更  
に、眼局所抗体産生能を促して組織抗体の関与如何を知る目的で、予め抗原の局所注入を施した  
感作家兔につき同じく血行性に再注射を行つてみたが、その成績は今日までのところ前実験群と  
大差なく、目的とする所見は得られなかつた。併し何れにせよ上述の知見は、総括すると、従来  
単に主として実験条件並びに組織学的所見からアレルギー性眼炎と見做していたものの基盤に確  
かに抗原抗体反応過程が存在することを形態的に実証したものであり、葡萄膜炎をはじめ諸種ア  
レルギー性眼疾患の発生病理の解明に資するところが大きいと考える。

## 審 査 結 果 の 要 旨

眼組織内における抗原抗体反応は、炎症性眼疾患の発生病理とも関連し、眼科領域では重要な課題の一つである。今回著者は従来の検索法と共に、蛍光色素標識法により眼組織内における抗原抗体反応の動向を追求した。

実験動物は成熟白色家兎を用い、抗原は精製牛血漿アルブミン、使用蛍光色素は直接的追跡法に Tetramethylrhodamine isothiocyanate, 所謂蛍光抗体法には Fluorescein isothiocyanate を撰んだ。

実験方法としては、感作家兎の眼局所に直接抗原が接した際の眼内抗原抗体反応の動態を見る目的で、標識抗原の再注射を前房、角膜、硝子体、脈絡膜に行ない、更に標識抗原の再注射を血管を介して行ない、抗原が全身性に与えられた場合の眼反応様態を検討した。

全実験を通じて、対照群では特殊な所見は見られなかつたが、感作家兎にあつては毎常特有な蛍光顆粒状凝集物（抗原抗体複合物）の出現を認めた。

前房注入群では極めて早期より抗原抗体複合物が認められ、その場は房水中を主とし、虹彩実質、時に角膜後面、水晶体前表面にも認められた。前房内に抗原を注入し蛍光凝集物を認めたことは、試験管内における沈降反応と比すべき現象と見られ、更にまた一部切片について試みた蛍光抗体法によると、本凝集物が高濃度の $\gamma$ -グロブリンを含むことがうかがわれ、しかもこの凝集物が感作家兎に限り必発していることから、これは抗原抗体複合物と見做される。

従来まで、その微量なるが故に検出が困難であつた房水内抗体が、今回の手技により鋭敏に検出されたことは注目される。

角膜注入群では、11眼中9眼に所謂 Immuno-corneal ring の出現を見、その特有なる形成過程が蛍光顕微鏡下で明らかにされ、組織学的にもこの corneal ring を裏付けるに充分な所見をみた。角膜内における抗体の分布は Arthus 現象の存否とも関連し、異論のあるところである。著者は本群での反応抗体は、角膜周辺の血管系より来る血清由来の液性抗体が専ら関与するものと考えている。

硝子体群では注入抗原は硝子体内で拡散し主に前方流路より流出する。複合物の所在は硝子体全般に散在するが網膜より外側には認められず、注入抗原が抗体と接触する場は一次的には硝子体にあると見られた。従つて、従来アレルギー性葡萄膜炎のモデル実験として採用されている異種蛋白硝子体注入による脈絡膜の病変は一応二次的に招来されたものと著者は推論した。

脈絡膜群では、複合物は抗原注入局所の脈絡膜内に現われるほか、局所より隔つた部位にもしばしば認められた。

再注射を血行性に行つた場合、予め眼部に何ら処置を施さなかつた場合でも、眼部では脈絡膜を主とする葡萄膜に蛍光凝集物を見た。この分布は、肺、肝、腎、心等に於ける複合物の分布状態と比較しても、益的には相対的にかなりな程度であり、この事実は葡萄膜炎の発生を解明するに有力な根拠を与えたものである。

以上の成績は、従来、実験条件ならびに組織学的所見のみからアレルギー性眼反応と見做されていたものに、確実に抗原抗体反応の過程が存在することを新しく形態的に実証したものである。

したがつて本論文は学位を授与するに値すると認める。