

氏 名 (本 籍) 菊 池 武 邦

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 8 5 3 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 4 9 年 2 月 2 0 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 4 2 年 3 月 2 5 日
 北 海 道 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 眼 ト キ ソ プ ラ ズ マ 症 (T p 症) の 血 清 学 的 並 び
 に 実 験 的 研 究

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 水 野 勝 義 教 授 石 田 名 香 雄

 教 授 山 根 續

論文内容要旨

ヒトTp症における感染時期の推定には、これまで種々な方法で検討を行ってきたが、これまでの方法は臨床面への応用には難点があった。そこで著者は間接蛍光抗体法によりIgM, IgGの動きをとらえ、これをヒト眼Tp症に利用し、感染時期の推定に役立てようと試みた。

また眼Tp症は普通比較的限局した網脈絡膜の炎症として特徴づけられるが、その特異な症状の成立を解明するためには実験眼Tp症が必要である。従来これに関しては多数の報告がなされているが、しかしまだヒト眼Tp症と類似した結果を得たものは殆んどない。そこで今回著者は有色家兎の眼底後極部硝子体内にマイクロシリンジを用いBeverley株増殖型虫体を接種しその際の眼症状の観察を行ない、ヒト眼Tp症に近い所見を得ることができた。

I まず基礎実験として全身感染家兎から得た血清を用いて間接蛍光抗体法を行い、その手技を検討すると共に抗体価の動きを追跡した。

1. 実験方法

赤血球凝集反応(HA test)陰性であることを確認した家兎を用い、Beverley株感染マウスよりTpシストを含む脳乳剤を作り、これを0.2cc腹腔内に注入した。感染後毎週採血し、この血清を材料としてHA testおよび間接蛍光抗体法を行った。蛍光抗体液は抗家兎IgM羊血清、抗家兎IgG羊血清にfluorescein isothiocyanateを標識し、その後sephadex G-50カラム、DEAEセルロースカラムにより精製した。抗原はGoldmanの方法に準じて作成したが固定方法は1% formalinの他にaceton, methanol, 0.5% glutaraldehydeによる固定方法をも検討した。被検血清はアスベストを通し使用し、染色の際はコントロールとして感染前のHA test陰性血清を常時染色した。1次反応は40分、2次反応は20分とした。判定は蛍光顕微鏡下、1000倍にて、虫体の細胞膜と思われる部分に蛍光を発するものを陽性した。

2. 実験成績

HA testの変動をみると、ほとんどが2週目で、遅くとも3週目にはすべての家兎において抗体価の上昇を示し、その後長期にわたって、ほぼそのままの抗体価を維持した。間接蛍光抗体法によるIgM抗体価の変動は感染後第2週でおそくとも第3週には上昇し、ほとんどが1週後にピークに達し、次の週にはもとの価に復した。IgG抗体価の上昇は感染後第2週、おそくとも第4週にはすべての例に上昇が認められ抗体価のピークは第4週前後にあり、16週後には上昇した抗体価を維持するものと、それよりやや低下したものがあつた。固定方法に関しては0.5% glutaraldehydeによる固定で良好な染色状態が得られた。

II 次に増殖型Tpによる実験的眼Tp症の作製と眼局所感染の際の抗体価の変動の追跡を行い、

さらに眼Tp症患者血清に間接蛍光抗体法を応用した。

1 実験方法

成熟有色家兎で眼底に病変を認めず、HA test 陰性であるもの8羽を用いた。中山らの方法によりBeverley株増殖型虫体を得て、これをNozik and O'Connorの方法により虫体サスペンションを作りマイクロシリンジを用いて、その1 μ lを眼球後極部硝子体内に眼底を観察しつつ、注入接種した。なおこの際針が硝子体内に深く穿入されない様できるだけ注入部が硝子体の網膜側に近いように針を斜めに進める様留意した。観察は、手持スリットランプおよびボンノスコープを用い、同時に眼底写真撮影を行い、6週後に蛍光眼底撮影を行った。血清学的検索はHA test と間接蛍光抗体法にて行い組織学的検索は95%エタノール固定、HE染色PAS染色にて光顕的に観察した。又、蛍光抗体直接法により虫体の検索を行った。次に臨床的に眼Tp症を疑った者、16例を中心とし、合計24症例について蛍光眼底撮影等の臨床的観察および間接蛍光抗体法により抗体価を測定した。

2 実験成績

前眼部症状は比較度軽度であった。眼底は接種後3日目ごろより硝子体混濁がみられ、接種部付近から滲出が始まり硝子体混濁も徐々に増加したが、その後消退した。4眼においては滲出は眼底全体に広がり、限局性病変を作り得なかったが、6眼には硝子体混濁消退後限局性病変がみられ、そのうち1眼の病巣周囲には色素沈着がみられた。6週後に行った蛍光眼底撮影では病巣周囲よりの色素漏出が強くみられた。組織学的所見は滲出部を中心として、網膜の浮腫と脈絡膜の肉芽性増殖性変化を示した。蛍光抗体法によるTpの検索では特異蛍光はみられなかった。24例の臨床例のうち活動性眼Tp症と判定されたものは6例であったが、このうち間接蛍光抗体法によりIgM抗体価の上昇を認めたのは1例のみであった。

考 按 お よ び 結 論

これまでの実験的眼Tp症の多くは眼局所感染による発症方法をとっており、その際の接種量接種場所が適当でないため眼底透視不能となっていた。今回使用したBeverley株はシストを作りやすく増殖型虫体を得にくいのが、steroid剤を用いて増殖型を遊出させ、マイクロシリンジを用いての虫体の硝子体内接種により滲出性限局性病巣を作り得た。またこの際の間接蛍光抗体法による抗体価の変動は全身感染の場合とほぼ同様でIgM抗体価は3週目までに検出された。ヒト眼Tp症への応用結果では臨床的に初期病変で活動性があると判定されても真に感染初期であることは少いと思われた。間接蛍光抗体法はとくに初期病変の鑑別に応用すべきであることが明らかとなった。

審査結果の要旨

眼トキソプラズマ症 (Tp 症) の診断, 予後に関しては未だ不明な点も多く, 治療法も完全とはいえない現状である。そこで著者は眼Tp 症の感染時期の推定, ならびに眼底所見の本態を解明するために, 実験Tp 症におけるIgMおよびIgGの動態を追究し, さらにTp 性網脈絡膜炎の病理組織学的変化を明らかにしようとし, 以下の実験を行った。研究は2部に分れ, その前半は,

1. 眼Tp 症の血清学的並びに実験的研究である。本実験では, マウスにBeverley 株を接種し, これよりTp シストを含む脳乳剤を作り, これを家兎の腹腔内に注射し, 感染後毎週採血し, その血清の赤血球凝集反応および間接蛍光抗体法を行った。蛍光抗体は抗家兎IgM, IgG羊血清にfluorescein isothiocyanateを標識し, これをカラムクロマトグラフィーで精製した。抗原はアセトン, エタノール, ホルマリンおよびグルタルアルデヒドで固定し, 結果を比較した。判定は虫体細胞膜と思われる部分に蛍光が認められる場合を陽性とした。

その結果, 原虫の固定には0.5%グルタルアルデヒドが虫体の変化が少く, 染色状態も良好なことが分った。またIgM抗体価の上昇は感染後第2・第3週の間に見られ, IgG抗体価は感染後第4週で最高となり, 次後暫時下降することを明らかにした。

研究の後半は,

2. 実験的眼Tp 症について, およびヒト眼Tp 症への間接蛍光抗体法の応用である。本実験ではTp Beverley 株増殖型を家兎硝子体内に接種し, 実験的眼Tp 症を発症させ, 臨床的, 血清学的所見を観察し, さらに病理組織像をも検討した。また, ヒト眼Tp 症に間接蛍光抗体法を応用し感染時期の推定も試みた。

その結果, 硝子体内接種量を極少量にすることにより, 後極部に限局した病変を惹起させることが出来た。その場合, 硝子体混濁, 滲出性病変で始まり, その後色素沈着を伴う網脈絡膜萎縮を残した。その組織像は網膜の浮腫性変化と脈絡膜の肉芽性増殖性炎の組織像であった。また, ヒトTp 症で眼底変化が活動期と判定されたもののうち, IgM抗体価が上昇していたのは1例のみであった。

以上のごとく, 本研究はヒト眼Tp 症においてもIgM・IgG抗体価の測定が感染時期の推定に役立つこと, また極微量の虫体の硝子体内接種によりヒト眼Tp 症類似の病変を作りうることを明らかにし, 眼Tp 症の臨床ならびに病理学に新しい方向性を見出した点に意義と価値がある。よって医学博士の学位を授与するに値すると判定する。