大腸菌感作関節炎の発生機序における抗原の役割

青木重久・生田耕司・永松潔和*

Ethiological role of antigen in E. coli-induced sensitizing arthritis

Shigehisa Aoki・Koji Ikuta・Kiyokazu Nagamatsu*

ウサギの大腸菌感作により慢性関節リウマチ (RA) に類似した関節炎が発生し、同時に血清中にはヒトリウマチ因子に相当するリウマチ因子様物質 (RFLS) が検出される¹⁾。この RA 類似の炎症のメカニズムを研究するため本関節炎における大腸菌抗原の役割と免疫学的背景を検討した。また関節炎が発症したウサギの腸内細菌叢の変動についても検索したので報告する。

材料と方法

RA 類似の関節炎を生成するため、大腸菌0:14株加熱死菌を混じた Freund の不完全アジュバントで日本白色雑種ウサギおよび純系 (New Zealand White, NZW) ウサギを長期間感作した。関節材料を採取してパラフィン包埋し、切片作製後 IgG, β_{1C} , RFLS, 大腸菌抗原を蛍光抗体または酵素抗体法により検索した。IgG- β_{1C} や IgG-RFLS などの免疫複合体の検索には rhodamine と fluorescein による蛍光二重染色を行った。

腸内細菌叢の検討のため、純系 (NZW) ウサギ 10 羽を大腸菌0:14加熱死菌で同様に感作し、感作前と感作3カ月で関節炎を発生したウサギの腸内細菌叢の変動を検討した。この検索は東海大学医学部微生物学教室 小澤敦教授との協同研究によってなされたものである。方法は無菌的に採取した早期便 1g を試験管中の滅菌希釈液に入れ、短時間にガラスホモジナイザーで粉碎し、アセトンドライアイスで急速凍結した。凍結材料は24時間以内に東海大学へ運搬し、以後は東海大学微生物学教室のご好意により腸内細菌叢の検索がなされた。

結果と考察

(1) 大腸菌感作関節炎の免疫組織学的変化

IgG の局在は、滑膜絨毛内に形成されたリンパ濾胞周辺部に存在する形質細胞に観察され、滑膜表層部にも塊状または帯状をなして認められる。RFLS の局在は滑膜表層下組織の形質細胞の胞体内に観察され、この所見から大腸菌感作関節炎において RFLS の関節炎局所での合成が示唆される。また RFLS は滑膜表層細胞およびその付近の関節腔と表層下の食細胞内にも存在し、一部は細胞外に遊離した粒子状物質としても観察された。補体成分としての β_{1C} グロブリンの局在は、滑膜表層部の IgG 沈着や食細胞内 IgG と関連してみられることが多い。蛍光二重染色によると、遊離状態や食細胞内で IgG と β_{1C} の局在が一致しており、このことから IgG が β_{1C} と complex の形で存在すると考

えられる。IgG と RFLS についても同様の蛍光二重染色を行うと、IgG と RFLS は食細胞内で一致した局在を示した。このことから IgG と RFLS が免疫複合体の形で存在すると理解される。大腸菌抗原の局在は一般に少ないが、滑膜組織に点在する粒子状の蛍光として観察され (図1)、同一切片の HE 後染色から主として食細胞内にあることがわかった。この大腸菌感作抗原の関節組織への到達経路を詳細に検討すると、滑膜表層下組織の血管内皮細胞に接して抗原が認められた。またリンパ濾胞形成部付近の細血管内に抗原が観察された (図2, 矢印)。このことから大腸菌抗原は感作継続中血行性に関節に到達し、血管内大腸菌抗原が比較的多く局在する場にリンパ濾胞を形成したと考えられる。

(2) 腸内細菌叢の変動

ヒト RA では腸内細菌の一種である *Clostridium perfringens* が異常な増殖を示すとともにこの抗原に対する遅延型皮膚反応が陽性であったという成績²⁾がある。またブタに高蛋白食を与えると *Clostridium perfringens* が増加し、この菌に対する抗体価の上昇とともにヒト RA に類似した無菌症関節炎が発生するという報告³⁾がある。そこで、大腸菌感作関節炎の腸内常在菌叢についてその変動を検討した。多発性関節炎を発生した純系ウサギの感作前と感作3カ月後の大便を採取し、腸内常在菌叢の変化を検索した成績が表1に示されている。感作3カ月後好気的条件下で増殖できる通性嫌気性菌群の種類が増え、しかも同種菌の菌数が増加している。無芽胞の偏性嫌気性菌群では感作後同種菌数の減少がみられ、菌種の変動が認められる。そして通性嫌気性群の菌数に対する偏性嫌気性群の菌数の比の常用対数値は3.8から1.8に変化し、通性嫌気性菌数優位の傾向がみられる。小澤⁴⁾は、Crohn 病などの患者の腸内細菌叢は健康成人に比較して著明な変動を示すと報告し、生体側の条件いかによっては常在菌叢による組織障害的あるいは疾患発現的作用が発揮されうること示唆している。したがって、なんらかの要因によって大腸菌が増加し、腸血液関門を通過すれば Bennett の仮説⁵⁾のように RA の臨床病態が成立し、慢性多発性関節炎が発生する可能症が考えられる。

(3) 大腸菌感作関節炎の発生機序

以上の実験成績や考察から、つぎのような大腸菌感作関節炎の発生機序が予想される。大腸菌成分でウサギを長期間感作しつづけると感作抗原は滑膜組織に到達し、その直接作用ないし食細胞過程を通じて滑膜細胞の増殖と滑膜炎が発生し、大腸菌成分が initiating factor の役割を演ずるものと考えられる。一方、大腸菌抗原による間接的な作用として免疫反応を通じての作用が考えられる。大腸菌抗原が血管の内皮細胞に接触して局在する所見がみられ、その付近にリンパ濾胞が形成されていたことから、内皮細胞が Hirschberg ら⁶⁾のいうように抗原提供細胞としての役目を果たしていると考えられる。リ

* The Second Department of Pathology, Aichi Medical University 愛知医科大学病理学教室

表1 change of bacterial flora in the feces of arthritic rabbit (NZW-77, ♂)
induced by enterobacterial sensitization

before sensitization		after 3 months sensitization	
<i>Escherichia coli</i>	6.7×10^3	<i>Escherichia coli</i>	3×10^4
<i>Bacillus subtilis</i>	3×10^4	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1×10^2
<i>Candida</i> sp.	2×10^4	<i>Staphylococcus xylosus</i>	1×10^4
<i>Eubacterium lentum</i>	4×10^6	<i>Bacillus subtilis</i>	2.2×10^6
<i>Lactobacillus plantarum</i>	5×10^6	<i>Candida</i> sp.	4×10^6
<i>Streptococcus intermedius</i>	2×10^6	<i>Actinomyces israelii</i>	3×10^7
<i>Bacteroides capillosus</i>	1×10^8	<i>Clostridium ramosum</i>	9.6×10^7
<i>B. thetaiotaomicron</i>	2×10^8	<i>Bacteroides distasonis</i>	2.3×10^7
<i>B. vulgatus</i>	1.4×10^7	<i>B. ruminicola</i> ss <i>brevis</i>	2.1×10^7
<i>Veillonella parvula</i>	1×10^4	<i>B. thetaiotaomicron</i>	2×10^7
total bacterial No. per g	3.3×10^8	<i>B. vulgatus</i>	2×10^8
$\log \frac{\text{anaerobes}}{\text{aerobes}} = 3.8$		<i>Fusobacterium russii</i>	2×10^4
		total bacterial No. per g	3.9×10^8
		$\log \frac{\text{anaerobes}}{\text{aerobes}} = 1.8$

図1 scattered distribution of *E. coli* antigen within phagocytes in the synovial tissue (immunofluorescent stain, $\times 250$) 図2 *E. coli* antigen (arrows) within the blood vessel associated with formation of lymphoid follicle (immunoperoxidase method, $\times 100$)

ンパ濾胞周辺部に存在する形質細胞は IgG を強く産生し、これを抗原刺激として RFLS が合成されと考えられる。これが抗原である IgG と結合して IgG-RFLS 複合体を形成する。これは関節炎局所で観察された IgG- β_{2C} complex や抗大腸菌免疫複合体とともに第Ⅲ型反応における組織障害を起こす。大腸菌成分による繰り返された滑膜組織に対する作用やアレルギー反応を通じて炎症が慢性肉芽性に発展すると考えられる。以上のような過程は、ヒト RA に類似した関節炎の発生機序において重要な部分をなしていると推定される。

本研究は厚生省特定疾患調査研究費ならびに文部省科学研究費の援助による。

文 献

- 1) Aoki, S., Ikuta, K., Aoyama, G.: Induction of chronic polyarthritis in rabbits. *Nature* 237: 168-169, 1972.
- 2) Månsson, I., Olhagen, B.: Intestinal *Clostridium perfringens* in rheumatoid arthritis and other connective tissue disorders. *Acta Rheum. Scand.* 12: 167-174, 1966.
- 3) Månsson, I., Norbery, R., Olhagen, B., et al.: Arthritis in pigs induced by dietary factors. Microbiologic, clinical and histologic studies. *Clin. Exp. Immunol.* 9: 677: 693, 1971.
- 4) 小澤 敦: 感染と常在細菌叢. *日本医師会雑誌* 87: 229-239, 1982.
- 5) Bennett, J.C.: The infectious etiology of rheumatoid arthritis. New considerations. *Arthritis Rheum.* 21: 531-538, 1978.
- 6) Hirschberg, H., Bergh, O.J., Thorsby, E.: Antigen-presenting properties of human vascular endothelial cells. *J. Exp. Med.* 152: 249s-255s, 1980.