シンポジウム 内科領域における自己免疫疾患

(1) (招請) 無菌動物実験の角度からみた自己免疫

名古屋大学医学部病理学教授

宮 川 正 澄

SYMPOSIUM ON CLINICAL ASPECTS AND PATHOGENESIS OF AUTOIMMUNE DISEASES

(1) THE AUTOIMMUNE DISEASE FROM THE VIEWPOINT OF GERMFREE ANIMAL RESEARCH

Masasumi MIYAKAWA

Professor of Department of Pathology, Nagoya University
School of Medicine

I. はじめに

自己免疫疾患の研究における無菌動物の利用価値には大別して二つの方向があると考ええる。一つは常在微生物を欠く無菌動物において自己免疫疾患というものが自然発生するかどうか、あるいは何らかの処置によつて自己免疫疾患を作出することができるかどうかであり、この種の観察や実験は微生物という紛らわしい因子を除外した場における検討だけに、そのような例証を提出しうれば興味深いところである。第二の方向は臨床的に自己免疫を疑われている疾患に対して、果してそうであるかどうかを吟味するために必要な微生物汚染なしの抗原的素材を提供しうることである。

II. 自然発生と実験的作出

まず第一の問題であるが、わたしどもは過去20年間にきわめて多数の無菌モルモット、無菌ラット、無菌マウス、無菌ブタを観察してきたが、Dameshek¹⁾のいうdefiniteな意味での自己免疫疾患たるhemolytic anemia, thyroiditis, systemic lupus erythematosusと思われる所見に接したこと

がないし、また対照自然動物においてもこの種の所見に遭遇したことがない。しかしながら、自然動物にかんしては、Bielschowsky²⁾³⁾らはNZB/BL系マウスに自然発生したautoimmune hemolytic anemiaについて報告しており、Lewis⁴⁾⁵⁾はイスに自然発生したautoimmune hemolytic anemiaやsystemic lupus erythematosusを報告しているので、果して無菌動物においてのみ絶無になるのか、常在微生物の役割にも関連するので、充分なる吟味が必要であろう。

Definiteな自己免疫疾患ではないが、免疫学的機序が発起に関与しているらしい原因不明なる疾患群にまでその範囲を拡大して、無菌動物における自然発生を検討するということとなれば、まずdysgammaglobulinemiaの考え方のあるamyloidosisの自然発生が問題になる。わたしどもはこの種の疾患の自然発生を無菌マウスにおいて経験している⁴⁾ 図1は173日目の無菌マウスに見られたamyloidosisの肝の組織像である。Disse腔を中心として硝子様amyloid物質が沈着し、肝細胞索を強く圧迫している。この肝は肉眼的には小さく硬

図 1

くなつていわゆるHolzleberの外観を示したものである。なお、この例は脾、腎にもamyloid物質の沈着であり、全身性amyloidosisと考えるべきものであつた。この例について注目すべきは血清 γ -globulin値の低い無菌動物におけるamyloidosisの発起という点にある。hypogammaglobulinemiaは無菌動物の一大特性である。教室の原⁴⁾のモルモットについての検索結果によると、自然動物の血清 γ -globulin値の6%に対して、無菌動物のそれは3.4%であつた。Gustafsson⁵⁾のラットについての検索によると、自然動物の γ -globulin値は平均0.49mg/mlであつたが、無菌動物のそれは平均0.21mg/mlと $\frac{1}{2}$ 以下の低値を示し、その後代を重ねて検索してみても、その低値を維持したという。

無菌動物のamyloidosisをdysproteinemiaの結果だとすれば、hypogammaglobulinemiaの状態がしばしば自己免疫的障害を生起せしめるといふDameshek¹⁾の考え方が想起される。この際リンパ球が重要な役割を演ずるとすれば、それに相応したlymphoproliferative disorderの所見が必要となる。しかるに、無菌動物ではリンパ装置の發育がきわめて低調であることは諸家の一致した見解であり、この種の發育貧弱なリンパ組織中に異常なるimmunocyte増殖を考えることは不可能である。むしろ、無菌動物化には代謝の大きなゆさぶりがあり、そこにdysproteinemiaが起ころうる可

能性を考える方がより合理的であろう。

次は自己免疫疾患を無菌動物において実験的に作出する問題である。definiteなる自己免疫疾患を無菌動物に実験的に生起せしめたという報告はいまだこれを聞かない。しかしながら、このような自己免疫疾患に随伴するdiffuse membranous glomerulonephritisを取り挙げれば、わたくしどもは温熱的前処置によつて、この種の腎障害を生起せしめている⁶⁾ 84日から271日にいたる15匹の成獣ラットと10日目の9匹の無菌幼ラットを12時間35°Cから43°Cの高温下に保つたところ、成獣は15匹中12匹が死亡したが、幼ラットは1匹でも死亡するものがなく、よくその高温に耐えた。高温下に死亡した例の腎を見ると充出血が主所見で、例によつては細尿管主部上皮に顆粒状の沈殿物を認めたが、Weigert線維素染色法では陰性に終つた。したがつて、硝子滴状変性とは異なつた蛋白変性と考えられたが、凝固壊死のような強い変化は全く認められなかつた。これを要するに腎の変化は僅微であり、直接死因に結びつく所見はなかつたわけである。しかし、興味深いことには、高温暴露に耐えて生き残つた動物をその後129日経過したところで殺して検したところ、高温暴露既往を有するものは悉く、membranous glomerulonephritisに罹患していることが見出された。糸球体を見ると、基底膜の膨大硝子化があり、その部はPAS(periodic acid Schiff)法で陽性に染めだされる。甚だしき例ではすでに萎縮腎の所見を呈し、nephronの崩壊、残つた糸球体の硝子化、残つた細尿管の拡大、硝子円柱の多発が認められた。高温暴露直後死亡した例の検索によつて、腎の障害は形態的に僅微なものであつたところから、それに耐えて生き残つた動物のその当時の腎障害も形態的に同様僅微なものであつたと考えざるをえない。しかし、このような高温暴露既往を有する動物が、日月の経過と共に、きわめて深刻なる形態的变化を現出するという点に対しては単なる修復機転というだけでは説明されないところがある。しかし、このような事態が無菌動物においてのみ認め

られたということは、微生物の関与が完全に否定されうるものである。membranous glomerulonephritisはHolmes-Burnet⁹⁾によつて[NZB/BL系マウスの自己免疫疾患において確認されたが、この際胸腺の増生変化が自己免疫機転の発起に重要な役割を演じることが強調された。わたくしどもの無菌ラットにおいては、胸腺にはもちろん増生変化が認められなかつた。Boyden¹⁰⁾は、自己免疫は生理的なもので、循環系から細胞障害由来物質を除去する重要な機転であるとし、組織障害のあるところに自己抗体の生成の可能性を指摘した。無菌動物における温熱的腎障害をこのような立場で眺めることもできようが、しかしその背景にdefiniteな自己免疫疾患が確認されていない以上は、それにとらわれる必要は更でない。草野¹¹⁾は蛍光抗体法によつて、糸球体基底膜部に常在細菌性抗原に対応する抗体の存在を示唆する所見を提示し、自己免疫的な解釈の流行に警告を発している。

III. 抗原素材の提供

無菌動物の自己免疫研究上の効用の第二の方向はヒトの自己免疫疾患の吟味の際に細菌汚染のない抗原素材を提供しようということであり、臨床医学に寄与する将来性のある方向である。Brobergerらの研究によつてulcerative colitisを有する患者の血清中には新生児の結腸の抽出物と反応する抗体が存在することが見出された。しかし、この際結腸組織は腸内フローラに由来する抗原によつて汚染されている可能性があるために、たとえ新生児の結腸といえども適当な材料とはいえない。そこで、Perlmannら¹²⁾は無菌ラットの腸管に目をつけ、その結腸粘膜のフェノール抽出物を作製し、これにて感作せしめたヒツジ赤血球とulcerative colitisの患者血清との間に凝集反応を実施したところ明確なる陽性成績をえたが、自然ラットの腸管を利用するときには、腸内フローラ由来の抗原性物質との交叉反応のために現象の解析を至難にしたとし、この方面における無菌動物の臓器組織の利用価値の高いことを強調した。

わたくしどもが十二指腸潰瘍を有する患者に興味をもつたのは、Perlmannら¹²⁾の実験成績がulcerative colitisのみに特異的な現象であるかどうかという点からであつた。まず、無菌ラットおよび自然ラットよりそれぞれ小腸をとり、Westphal法によつて抗原を精製した。血清は名古屋日赤病院入院の患者5名および名古屋市内に在住する健康成人5名の血液より分離してえた。さて、抗原を2 mg/ccの割合にとかし、100°C 1時間加熱後、その4 ccに0.1 ccの割にヒツジ赤血球を加え、37°Cで1時間振盪し、しかる後に遠心して赤血球を分離し、これを生理的食塩水中に 5×10^8 cells/ccとなるように浮遊して抗原浮遊液とした。かくて、十二指腸潰瘍患者および健康人血清を4倍からはじめ512倍まで2倍段階稀釈を行ない、その0.1 ccに前記赤血球浮遊液0.1 ccを加え、時々振盪しながら、常温にて放置し、翌日赤血球凝集の有無を検したが、その結果は表1のようになった。この表で見られるように、いずれも4倍以下の成績であり、すなわち、被検血清は十二指腸潰瘍患者のものであろうと、健康人のものであろうと、無菌ラットおよび自然ラットを問わず、それらの小腸上皮細胞由来の抗原性物質に対する抗体を有していないということである。このことは、もしこの検索手技に誤りがないとすれば、十二指腸潰瘍は同一な腸管粘膜の欠損でありながら、ulcerative colitisとその発現機序において異質的なものであるという推定が許されると思う。結局、この実験

表1. 赤血球凝集反応

患 者				健康人			
No. 1	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×	No. 1	♀	有菌 無菌	<4 × <4 ×
No. 2	♀	有菌 無菌	<4 × <4 ×	No. 2	♀	有菌 無菌	<4 × <4 ×
No. 3	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×	No. 3	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×
No. 4	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×	No. 4	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×
No. 5	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×	No. 5	♂	有菌 無菌	<4 × <4 ×

はulcerative colitisの自己免疫性としての特異性を限定するための対照実験の一つとしての役割を果たしたことになる

自己免疫疾患の吟味のための無菌動物の臓器組織の利用性は今後ますます拡大されるものと思われる。たとえば、ヒト腎炎に対して抗原素材としての腎、ヒト悪性貧血に対する抗原素材としての胃体部などを取得源として無菌動物は注目されてくるであろう

むすび

Definiteな自己免疫疾患が無菌動物において自然発生した報告はないし、また実験的に誘導作出した報告もない。definiteに自己免疫疾患といわれるものの発現に、常在微生物が何らかの役割をなすかどうかに関連してNZB/BL系マウスの無菌動物化が興味深い問題となるであろう。本稿では無菌動物において観察されたamyloidosisおよび実験的に作出しえたmembranous glomerulonephritisについて吟味し、さらに自己免疫性がうたがわれているヒト疾患のための抗原素材の提供源としての無菌動物の効用性の問題に触れた。

主要文献

1) Dameshek, W.: Autoimmunity: Theoretical aspect. Ann. N.Y. Acad. Sci., 124: 6—28, 1965.

—2) Bielschowsky, M.B., Helyer, B.J. & Howle, J.B.: spontaneous hemolytic anemia in mice of the NZB/BL strain. Proc. Univ. Otago Med. Sch., 37: 9—11, 1959. —3) Helyer, B.J. & Howle, J.B.: Spontaneous autoimmune disease in NZB/BL mice. Brit. J. Haemat., 9: 119—131, 1963. —4) 宮川正澄: 無菌動物を利用する病理学的研究. 日病会誌, 50: 53—90, 1961. —5) Gustafsson, B. & Laurell, C.E.: Gammaglobulin in germfree rats. J. exp. Med., 108: 251, 1958. —6) Miyakawa, M. & Uno, Y.: The effect of high temperature on the germfree life under the enclosed environment. Proc. of the Fifth Intern. Symp. on Space Technol. and Sci., Tokyo, 1963. —7) Lewis, R.M., Henry, W.B., Thornton, G.W. & Gilmore, C.E.: A syndrome of autoimmune hemolytic anemia and thrombocytopenia in dogs. Proc. Am. J. Vet. Med. Assoc., 1: 140—163, 1963. —8) Lewis, R.M., Swartz, R.S. & Gilmore, C.E.: Autoimmune disease in domestic animals. Ann. N.Y. Acad. Sci., 124: 178—200, 1965. —9) Holmes, M.C. & Burnet, F.M.: The natural history of autoimmune disease in NZB mice. Ann intern. Med., 59: 265—276, 1963. —10) Boyden, S.: Autoimmunity and inflammation. Nature, 201: 200, 1964. —11) 草野信男: 螢光抗体法と自然免疫. 第17回日本医学会総会—シンポジウム, 感染と炎症, 名古屋, 1967. —12) Perlmann, P., Hammarström, S., Lagercrantz, R. & Gustafsson, B.E.: Antigen from colon of germ-free rats and antibodies in human ulcerative colitis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 124: 377—394, 1965.