

「酵素抗原法」とは、組織切片上の特異抗体産生細胞を可視化する手法である。この方法は、酵素抗体法の裏返しである。すなわち、抗原に酵素などを標識し、この標識抗原を用いて組織切片を染色することによって、組織切片上の特異抗体を標識抗原に認識させ、可視化する方法である(Fig. 1)。この方法を確立することによって、「特異抗体産生細胞の局在観察」という今までにない新たな視点で病態解析を行うことが可能となる。しかし、この方法論は1968年に Strauss (J. Histochem.Cytochem. 16: 237, 1968)および Avrameasらのグループ (J. Exp. Med. 127: 109-118, 1968)によって、西洋わさびペルオキシダーゼ (horse radish peroxidase, HRP) に対する特異抗体の局在が報告された後、全く応用されていない。

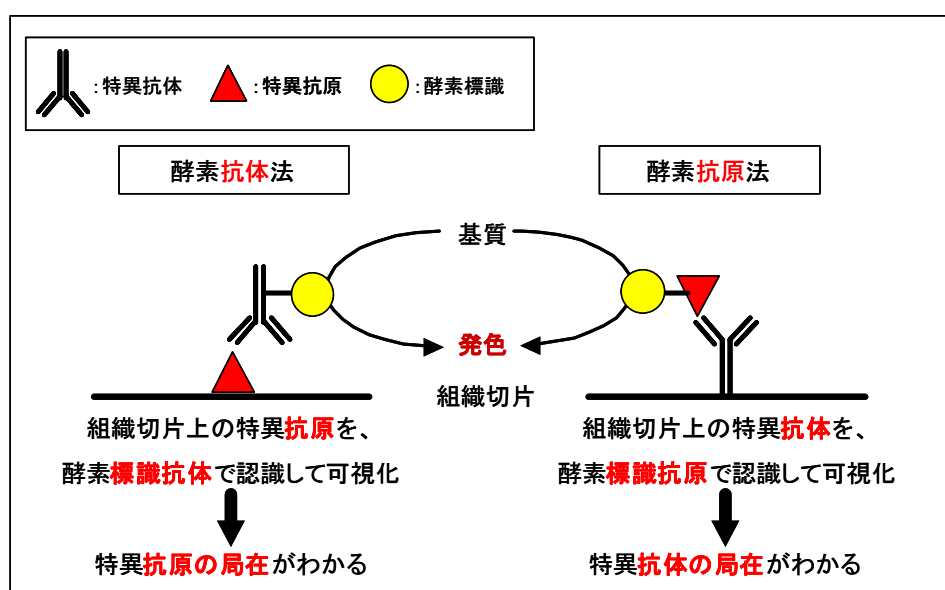


Fig. 1. 酵素抗体法と酵素抗原法の模式図

そこで当研究室では、この「酵素抗原法」の再現を試みた。HRPで免疫したラットのリンパ節・脾臓の凍結組織切片を作製し、抗原としてHRPを用いて酵素抗原法により染色した。その結果、リンパ節・脾臓ともに、抗HRP抗体産生細胞の可視化に成功した。よってこの方法論が充分可能であることが再確認された (Fig. 2)。

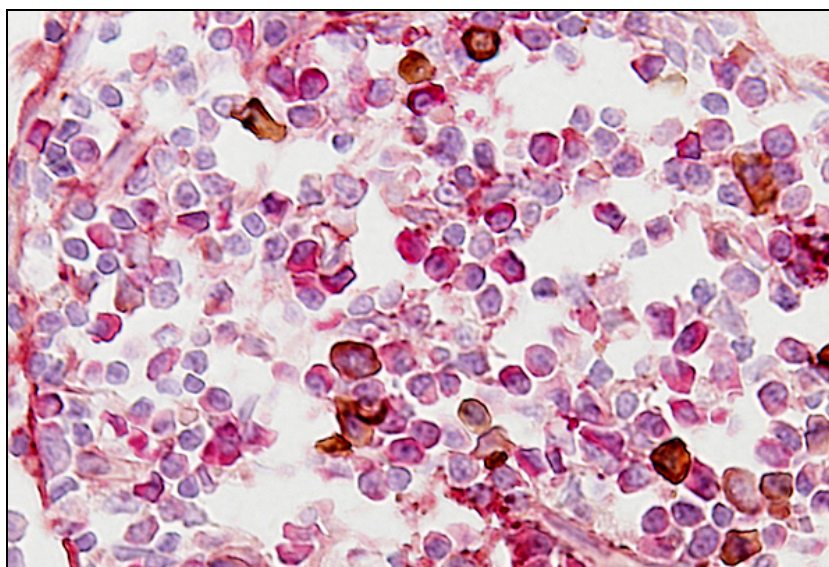


Fig. 2 HRP 免疫ラットのリンパ節の凍結組織切片を用いて、酵素抗体法により免疫グロブリンを、酵素抗原法により HRP 抗体産生細胞を染色した。多数の抗体産生細胞（赤色）の中に抗 HRP 抗体産生細胞（茶色）が認められる。

この方法論を応用すべく、当研究室では炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎）を対象として、病変部に浸潤する抗体産生細胞の抗体 mRNA を解析し対応抗原を検索するアプローチを開始した。

炎症性腸疾患の患者数は、潰瘍性大腸炎では 7 万人以上、クローン病では 2 万人以上に及び、今なお増加を続けている。細菌感染や食生活などの環境因子および自己免疫異常などの遺伝因子がその発症・進展に関与していると考えられているが、確かな原因は不明であり、根本的な治療法は確立されておらず、原因の解明が望まれている。

炎症性腸疾患の病変局所では、多数の抗体産生細胞の浸潤が認められ、病変局所で産生される抗体が、病態の発症・進展に関与している可能性が推測される。しかし、これらの細胞が産生する抗体の対応抗原は明らかではない。対応抗原を明らかにすることで、疾患の原因究明、診断、治療に有用な抗体が得られる可能性がある。

そこで、病変局所に浸潤する個々の抗体産生細胞を分離し、抗体 mRNA を直接解析して、病変特異的な抗体の検索を行う。そして、病変特異的な抗体の対応抗原の解析を行う。さらに、得られた抗原を酵素標識して組織切片を染色すれば、酵素抗原法によって、対応する抗体を産生している抗体産生細胞の局在を可視化できるはずである。

すなわちこのアプローチの目標は、

1. 病変部からの抗体産生細胞の分離
2. 抗体 mRNA 解析
3. 病変特異的な抗体の検索
4. 対応抗原の解析

5. 対応抗原の分離・精製および標識

6. 標識抗原を用いた特異抗体産生細胞の可視化・酵素抗原法の染色条件の確立  
という一連の技術を確立することである。

これら一連の技術を確立できれば、抗体産生細胞浸潤の著しい他の疾患にも応用できるはずである。例えば、多発性骨髄腫、MALT lymphoma の病変局所で産生される抗体の特徴づけや、種々の感染症における抗病原菌抗体産生細胞と病原菌との位置関係の解析、橋本甲状腺炎や SLE などの自己免疫疾患における自己抗体産生部位の解明などが期待される。