

一 般 演 題 抄 録

27. アトピー性皮膚炎患者の眼瞼皮膚および結膜囊の細菌叢について

三島壮一郎 松本長太 下村嘉一

近畿大学医学部眼科学教室

目的：近年アトピー性皮膚炎の増加に伴い，その眼合併症である白内障，網膜剥離も増加傾向にある。さらに，アトピー性皮膚炎では皮膚の細菌検出率も高く，眼科領域においてもメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 感染例が散見され，その危険性が報告されている。今回，我々は当科において眼科手術を施行したアトピー性皮膚炎患者の眼瞼皮膚および結膜囊の細菌叢について調査したので報告する。対象および方法：対象は，1999年2月から2001年2月までの2年間に当科にて眼科手術を施行した15歳から44歳まで (平均26.5歳) のアトピー性皮膚炎患者60例 (男性39例，女性21例) である。対象疾患は，白内障55例57眼，毛様体扁平部裂孔16例19眼，網膜剥離21例21眼，増殖硝子体網膜炎8例8眼 (重複あり) であった。方法は，初診時および入院時に抗生物質，抗菌薬の点眼を使用していない状態で，左右上眼瞼皮膚と左右結膜囊の計4ヶ所の擦過培養を行い，菌の同定および薬剤感受性検査を施行した。

結果：ブドウ球菌属が最も多く検出され，そのうち，*Staphylococcus aureus* が眼瞼皮膚において30例，結膜囊において31例検出された。MRSA は眼瞼皮膚で7例 (11.7%)，結膜囊で8例 (13.3%) 認められた。また，コアグラウゼ陰性ブドウ球菌 (CNS) は，全菌種の中で最も多く検出され，眼瞼皮膚において37例，結膜囊において33例認められた。このうち，メチシリン耐性を示すものは眼瞼皮膚で15例，結膜囊で10例であった。また，CNSで同定が可能であったものは，*Staphylococcus epidermidis* が最も多く検出された。疾患別では，白内障55例中5例 (9.0%)，毛様体扁平部裂孔16例中4例 (25.0%)，網膜剥離21例中5例 (23.8%)，増殖硝子体網膜炎8例 (25.0%) にMRSAを検出した。これら症例は，アルベカシン点眼等を併用することにより良好な結果を得た。結論：アトピー性皮膚炎患者はMRSAの保菌率が高く，術前に眼瞼皮膚および結膜囊の細菌叢を把握することが必須である。

28. 蛍光顕微鏡画像解析装置によるKN細胞周期解析

和田拓也 奥本勝美 辰巳奇男 渡辺雅保* 古田 格**

近畿大学ライフサイエンス研究所 *近畿大学医学部細菌学教室 **近畿大学医学部臨床病理学教室

目的 細胞のDNA量を解析する装置としてはフローサイトメーターがよく使われているが，単層培養細胞の場合は細胞を浮遊させて測定しなければならない。そこで我々は，形態を損なわず細胞を接着したまま蛍光染色を行い蛍光顕微鏡画像解析装置での細胞周期を検討した。

方法 1. KN細胞 (サル腎臓由来) をウイリアムスE培地で培養しカバーガラスに接着させ， -30°C の70%エタノールで固定後，風乾しPI蛍光色素 (RNaseを含む) でDNAを染色する。スライドガラス上に封入し，蛍光顕微鏡，高感度CCDカメラでPIの蛍光画像を取り込み解析ソフトで個々の細胞の蛍光総量と最大蛍光輝度を解析し2次元分布図を作成した。

2. S期の細胞を求めるため培地にBrdUを30分間パルスラベルした後，冷エタノールで固定する。風乾後，塩酸でDNAの単鎖化を行い，中和後，抗BrdU抗体を結合させ，FITC標識2次抗体を標識しPIとの2重染色を行う。同視野での個々の細胞のPI蛍光総量とFITC蛍光総量を解析し，それぞれの蛍光総量の2次元分布図を作成した。

結果 1. PI単染色でもG1期，S+G2期，M期の細胞集団を分類することができた。特に染色体が凝縮するM期については，前期，中期，後期と分類できた。また，微分干渉像と併用することにより，M期からG1期へ移行する細胞の形態観察が同時に行うことができ正確なM期を算出することができた。BrdU/PI二重染色の2次元分布図からはG1期，BrdUを取り込んだS期，G2+M期の細胞集団が分類できた。S期の細胞はフローサイトメーターと同様逆V字型の分布を示した。その結果，KN細胞の細胞周期はG1期：52±3%，S期：34±1%，G2期：9±2%，M期：4±0.2%であった。

2. 画像解析のプログラム化により数千個の細胞を取り込みから解析まで10分程度で迅速に行うことができた。

考察 細胞増殖に関連したモノクローナル抗体とPI核染色を組み合わせることにより，細胞周期における蛋白の発現量や局在性，細胞形態が個々の細胞で行うことができより詳細な解析が可能と思われる。