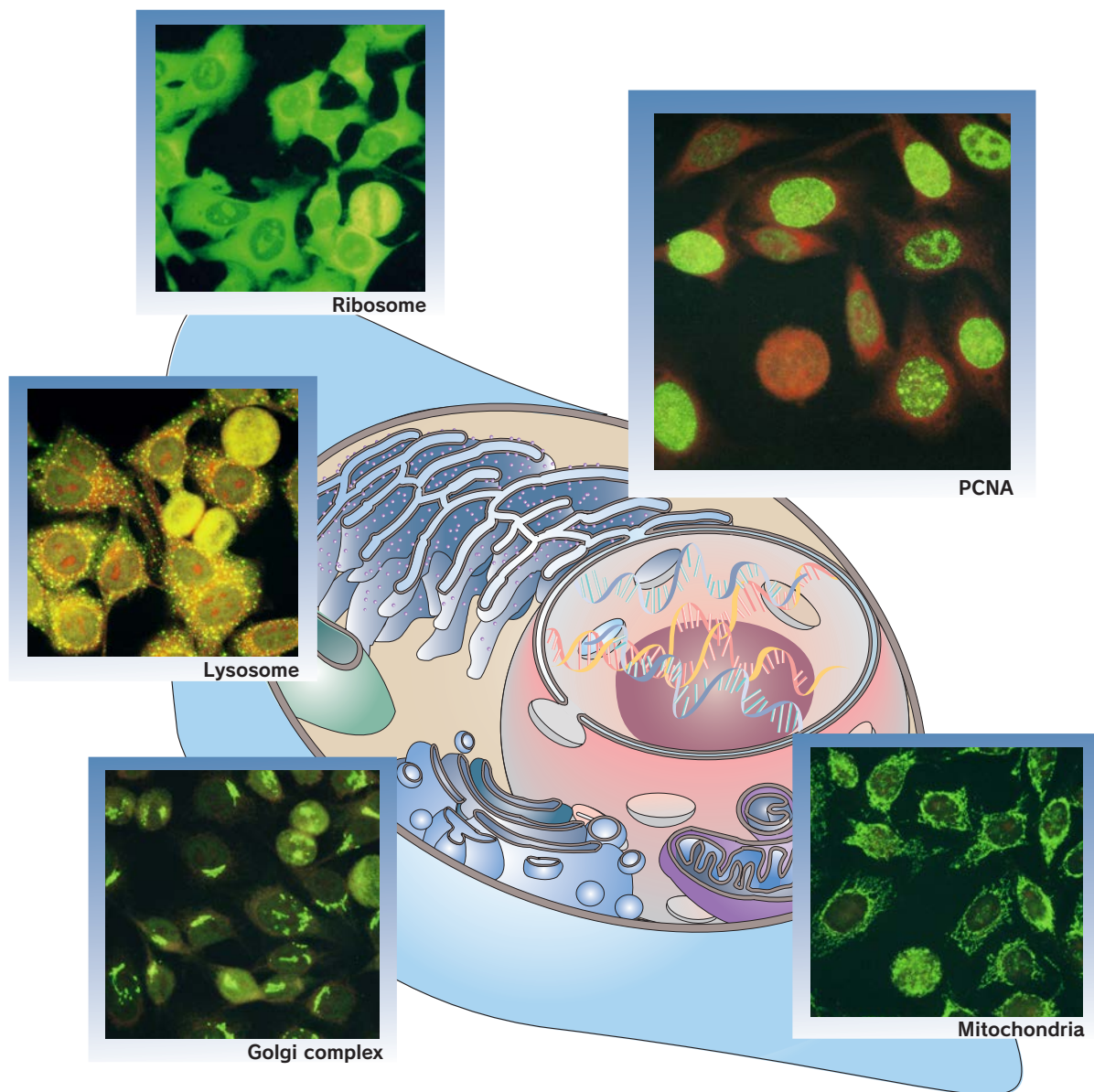


# 間接蛍光抗体法による抗核抗体写真集



間接蛍光抗体法による抗核抗体検査は、Friouら(1957)の報告以来今日に至るまで、自己免疫疾患の診断や治療に際して重要な役割を果たしてきました。抗核抗体を包括的に捉えるとともに、その染色像から存在する抗体のカテゴリーを推定できることは本法のもつ優れた特性といえます。抗核抗体の対応抗原は数多く、染色像のみからすべてを特定することは不可能ですが、主要な抗核抗体の染色像を知ることは自己抗体を理解する上で有用です。

※本写真集に掲載している細胞染色の写真は、フルオロ HEPANA テスト (code No. 4210, 4220) を用いたものです。特異染色がある部分は蛍光染色(緑色)で検出されます。赤色はエバンスブルー色素によるもので、特異染色がない部分となります。場合によって両者が重なり、黄色に見えることがあります。

## 細胞の構造と細胞周期

蛍光抗体法による抗核抗体検出の利点は、その染色像から対応抗原の局在を知ることができることにあります。染色像から対応抗原の局在を知るためには、細胞の構造と、細胞周期に伴う抗原の発現および局在の変化について理解しておく必要があります。

### ■ 細胞の構造

真核細胞（動物）の構造は、図1のようなものであり、それぞれの核分画には表1に示すような抗原が存在しています。また、細胞全体は細胞膜で覆われ、核は核膜で細胞質と隔てられています。

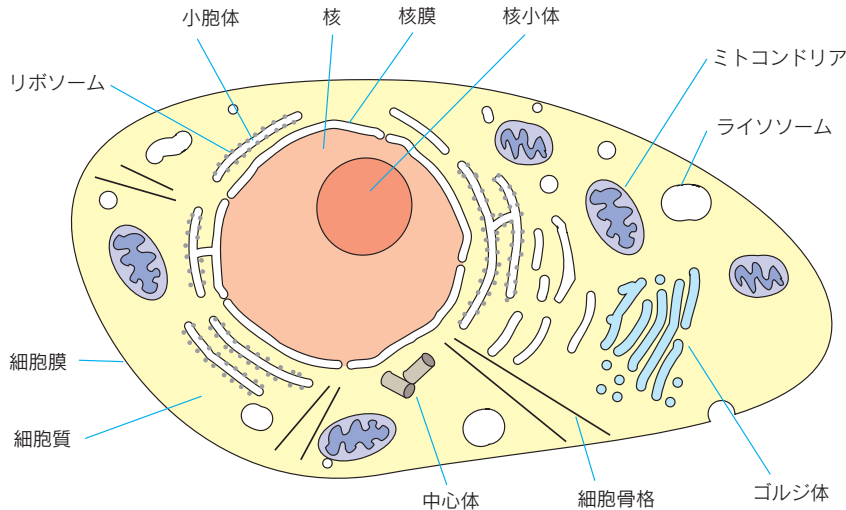


図1 HEp-2細胞

### 核

#### クロマチン分画

クロマチンを構成するDNA、ヒストン、セントロメア構成タンパク質、ポリADPリボースおよびDNAの複製に関する酵素 (ScI-70=トポイソメラーゼI) 等が存在します。

#### 核質

DNAやRNAの合成に関与するタンパク質 (PCNA=DNAポリメラーゼ $\delta$ 補助因子、SS-B/La) や、mRNAの成熟に関与するタンパク質 (U1RNP、Sm) 等が存在します。

#### 核小体

核小体はリボソームの合成工場としての役割を果たしており、リボソームを構成するRNAや、これらを合成する酵素 (RNAポリメラーゼI)、リボソームの組み立てを触媒するリボ核タンパク質 (U3RNP) 等が存在します。

核小体には数本の染色体からDNAの大きなループがのびだしてリボソームRNA遺伝子が転写されており、このリボソームRNA遺伝子のクラスターは核小体形成領域 (Nucleolus organizer region=NOR) と呼ばれています。

#### 細胞質

タンパク質の合成工場としてのリボソームや、タンパク質合成に関与する酵素、エネルギー生産工場としてのミトコンドリア、タンパク質の糖鎖修飾や小胞輸送に関与するゴルジ体、細胞分裂に関与する中心体、細胞の形態を維持する細胞骨格等が存在します。ミトコンドリアは細胞内の微小管に沿って存在しており、蛍光抗体法では、細胞質内に線維に沿ったように細かな顆粒状の蛍光として観察されます。

表 1 各種自己抗体の対応抗原と関連疾患

抗核抗体	局在	対応抗原	関連疾患
抗 ssDNA 抗体 抗 dsDNA 抗体 抗ポリ ADP リボース抗体 抗 Scl-70 抗体 抗セントロメア抗体 抗ヒストン抗体	クロマチン	1 本鎖 DNA (ssDNA) 2 本鎖 DNA (dsDNA) ポリ ADP リボース DNA トポイソメラーゼ I セントロメア ヒストン	SLE 等 SLE SLE SSc CREST 症候群 薬剤誘発ループス
抗 U1RNP 抗体 抗 Sm 抗体 抗 U2RNP 抗体 抗 SS-A/Ro 抗体 抗 SS-B/La 抗体 抗 PCNA 抗体 抗 Ku 抗体	核質	U1RNP U1, U2, U4/U6, U5 RNP U2RNP hY1 ~ hY5 RNP RNA ポリメラーゼ III 転写終結因子 DNA ポリメラーゼ δ 補助因子 DNA 依存性タンパク質キナーゼ補助因子	MCTD SLE Overlap 症候群 SS 等 SS SLE Overlap 症候群
抗 U3RNP 抗体 抗 7-2(Th)RNP 抗体 抗 RNA ポリメラーゼ I 抗体 抗 PM-Scl 抗体 抗 NOR-90 抗体	核小体	U3RNP (Fibrillarin) RNaseP, RNaseMRP RNA ポリメラーゼ I 11 種タンパク質複合体 (20-110kD) 核小体 NOR (hUBF)*	SSc SSc SSc Overlap 症候群 SSc

抗細胞質抗体	局在	対応抗原	関連疾患
抗 Jo-1 抗体 抗リボソーム抗体 抗ミトコンドリア抗体 抗 SS-A/Ro 抗体 その他 (抗アクチン抗体等)	細胞質	ヒスチジル tRNA 合成酵素 60S リボソームサブユニット ミトコンドリア hY1 ~ hY5 RNP	PM/DM SLE PBC SS 等

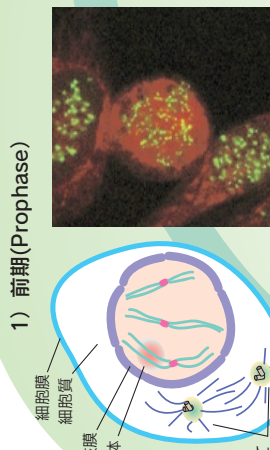
\*human Upstream Binding Factor

SLE: 全身性エリテマトーデス, SSc: 全身性強皮症, MCTD: 混合性結合組織病, SS: シェーグレン症候群,  
PM/DM: 多発性筋炎 / 皮膚筋炎, RA: 関節リウマチ, PBC: 原発性胆汁性肝硬変, AIH: 自己免疫性肝炎

## 細胞周期

分裂、増殖している細胞を観察すると、まず核内の成分が凝縮して染色体となり、この染色体が核の両側に移動して核が 2 つに分裂した後、細胞質が分裂して 2 つの細胞となります。分裂したそれぞれの細胞はしばらく時間をおき、再び分裂を繰り返します。この核の分裂と細胞質の分裂の時期を細胞分裂期 (M 期; Mitosis phase) といい、それ以外の時期を間期 (interphase) といいます。間期はさらに、G1 期 (Gap 1 phase)、S 期 (Synthesis phase)、G2 期 (Gap 2 phase) に分けられています。また G1 期の途中から休止期 G0 期 (Gap 0 phase) に入る細胞もあります。

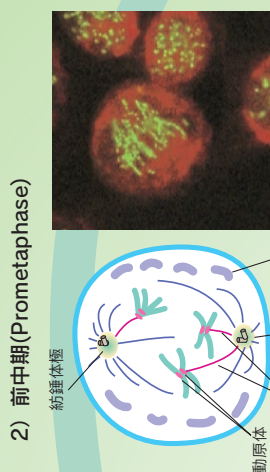
※次ページ図は細胞周期の模式図と MBL の「フルオロ HEPANA テスト (Code No. 4210, 4220)」を抗セントロメア抗体で染色した写真をあわせたものです。



1) 前期(Prophase)

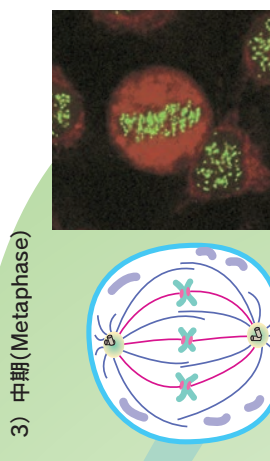
細胞骨格の一部をなしていた細胞質微小管が崩壊し、紡錘体の形成が始まる。培養細胞では細胞の形態が変化し、M期の間、細胞は丸くなくなつて接着性が減少する。また、間期に分散していたクロマチンは凝縮して染色体を形成し始める。G<sub>2</sub>期に小さくなくなった核小体は前期～前中期にかけて消失する。

中心体は分離して紡錘体極となる。



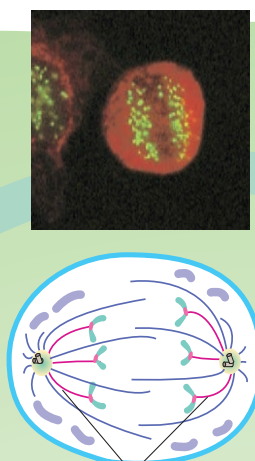
2) 前中期(Prometaphase)

核膜は崩壊して断片となり、核質と細胞質は混ざり合う。セントロメア複合体が形成され、そこに紡錘体微小管の一部(動原体微小管)が付着する。染色体は動原体微小管に引っ張られ活発に動く。



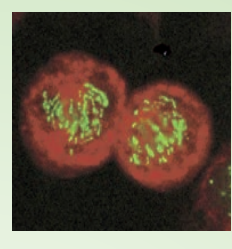
3) 中期(Metaphase)

M期の中では安定した時期であり、染色体は両極の中間で一つの平面状に並ぶ。



4) 後期(Anaphase)

各染色体で対をなしていた動原体が分離し、娘染色体は紡錘体極に向かって引かれて行く。



6) 細胞質分裂(Cytokinesis)

アクチンフィラメントを主成分とする収縮環の収縮によって細胞は2つに分かれる。分裂の最後には分裂溝の細胞質がくびれて中央体(midbody)となり、2つの娘細胞のつなぎとしてしばらく残っている。

娘染色体が両極に到達し、動原体微小管は消失する。染色体の周囲に再び核膜が形成され、細胞質と核質が分けられる。また、染色体は脱凝縮し、クロマチンは分散する。核小体は複数の点として観察されるようになり、G<sub>1</sub>期には融合して1つとなる。

細胞分裂期(M期)

間期

HEp-2細胞のような接着性の細胞は、細胞質を延ばし、容器やスライドガラスの表面に張り付いている。G<sub>1</sub>期はDNA合成の準備時期で、ヒストンの合成も始まる。S期に入るとDNAはDNAポリメラーゼによって複製される。G<sub>2</sub>期で、分裂の前にDNA複製が完全に行われたかチェックされる。間期にはクロマチンは解きほぐされて核全体に広がっている。

