

厚生省特定疾患

臨床調査研究グループ 免疫疾患調査研究班

ベーチェット病分科会

平成10年度研究報告書

平成11年4月

分科会会長 大野重昭

厚生省特定疾患
臨床調査研究グループ 免疫疾患調査研究班
ベーチェット病分科会
平成10年度研究報告書

平成11年4月

分科会会長 大野重昭

目次

I. 分科会員名簿

II. 総合研究報告

III. 総括研究報告

IV. 分担研究報告

1. ベーチェット病の眼合併症にたいする手術治療

大野重昭、太田敬子、三松美香、樋口亮太郎、中村 聡、米本淳一、
杉田美由紀

横浜市大・眼科

2. ベーチェット病の最近の動向

大野重昭、三松美香、太田敬子、中村 聡、樋口亮太郎、杉田美由紀
横浜市大・眼科

3. EAUにおけるリンパ球接着分子の検討

大野重昭、鳥山聖子、中村 聡、杉田美由紀、今井由美
横浜市大・眼科

4. HLAクラスI領域の構造解析およびベーチェット病原因候補遺伝子の探索

猪子英俊¹⁾、椎名 隆¹⁾、田宮 元¹⁾、岡 晃¹⁾、佐野和美¹⁾、木村 孝博²⁾、
矢吹和朗²⁾、後藤香織²⁾、
東海大・分子生命科学²⁾、横浜市大・眼科²⁾

5. EAU誘導ペプチド封入リポソーム前投与による、マウスEAU発症抑制

小野江和則¹⁾、北市伸義²⁾、南場研一²⁾、小竹 聡²⁾、笹本 洋一²⁾、
小笠原一誠¹⁾
北海道大・免研・病理¹⁾、北海道大・眼科²⁾

6. ベーチェット病患者血清中におけるマクロファージ遊走阻止因子の増加

小野江和則¹⁾、北市伸義²⁾、小竹 聡²⁾、笹本 洋一²⁾、西平 順³⁾、
小笠原一誠¹⁾
北海道大・免研・病理¹⁾、北海道大・眼科²⁾、北海道大・中央研究部³⁾

7. ベーチェット病モデルトランスジェニックマウス開発の試み

木村 穰¹⁾、末水 洋志¹⁾、後藤香織²⁾、矢吹和朗²⁾、木村孝博²⁾、
野村英一²⁾、佐藤正宏³⁾

東海大・分子生命科学²⁾、横浜市大・眼科²⁾、
東海大・総医研・分子発生科学³⁾

8. HLA-B*5101 結合ペプチドの低結合性の解析

滝口雅文、曾場尾勇司

熊大・エイズ学研究センターウイルス制御分野

9. ベーチェット病患者の抗リポテイコ酸抗体価

藤野雄次郎、陳 軍、蕪城俊克

東大・眼科

10. ベーチェット病の治療成績

藤野雄次郎、平岡美依奈、北川真由美、蕪城俊克、陳 軍、林 清文、
伊澤保穂、沼賀二郎

東大・眼科

11. サイトカイン機能阻害によるベーチェット病の新しい治療へのアプローチ

吉崎和幸¹⁾、西本憲弘¹⁾、青木千恵子¹⁾、中村秀次²⁾、松野博明³⁾、
松島綱治⁴⁾

阪大・健康体育健康医学第一部門¹⁾、阪大第三内科²⁾、

富山医薬大・整形外科³⁾、東大・医科研・社会予防医学・衛生⁴⁾

12. 日本人、ギリシャ人、イタリア人におけるベーチェット病患者のマイクロサテライト多型解析

太田正穂¹⁾、勝山善彦²⁾、水木 信久³⁾、安藤 等⁴⁾、猪子英俊⁴⁾

信州大・法医学¹⁾、信州大・薬剤部²⁾、横浜市大・眼科³⁾、

東海大・分子生命科学⁴⁾

13. ベーチェット病と自己ストレス蛋白特異的Tヘルパー1細胞

坂根 剛、鈴木 登、永渕裕子、岳野光洋

聖マリアンナ医大・難治研センター

14. ベーチェット病患者好中球におけるサイトカインの自発的産生

坂根 剛、岳野光洋、下山義博

聖マリアンナ医大・難治研センター

15. 進行性神経ベーチェット病に対するメソトレキセート少量パルス療法
-2年間の治療成績-
- 橋本喬史、一志邦夫、河井舞美、菊地弘敏、須田洋子、広畑俊成
帝京大・内科
16. ベーチェット病患者血液水銀濃度と好中球のX線マイクロアナリシス
宮田幹夫¹⁾、小川泰典¹⁾、宮澤七郎²⁾
北里大・眼科¹⁾、北里大・電顕室²⁾
17. ベーチェット病患者由来 *Streptococcus sanguis* 感染ノトバイオートマウス
を用いた口腔粘膜障害機序の解析
磯貝恵美子¹⁾、磯貝 浩²⁾、横田憲治³⁾、小熊恵二³⁾、木村浩一⁴⁾、
久保田 徹⁴⁾、藤井暢弘⁴⁾、小竹 聡⁵⁾、吉川浩二⁵⁾、大野重昭⁶⁾
北海道医療大・歯・口腔衛生¹⁾、札幌医大・実験動物²⁾、
岡山大・医・細菌³⁾、札幌医大・微生物⁴⁾、北大・眼科⁵⁾、
横浜市大・眼科⁶⁾
18. ブタ関節炎から分離された細菌はベーチェット病患者由来 *Streptococcus*
sanguis と一致する性状を持つ
磯貝恵美子¹⁾、勝見正道²⁾、磯貝 浩³⁾、横田憲治⁴⁾、小熊恵二⁴⁾、
小竹 聡⁵⁾、大野重昭⁶⁾
北海道医療大・歯・口腔衛生¹⁾、仙台食肉検査センター²⁾、
札幌医大・実験動物³⁾、岡山大・医・細菌⁴⁾、北大・眼科⁵⁾、
横浜市大・眼科⁶⁾
19. シクロスポリン内服中に神経症状を発症した患者の眼症状経過
小竹 聡、齋藤 航、笹本洋一、合田千穂、高橋光生
北大・眼科
20. 北大における最近のベーチェット病について
小竹 聡、寺山亜希子、笹本洋一、合田千穂、高橋光生、青柳麻衣子
北大・眼科
21. シクロスポリン投与ベーチェット病患者の長期経過
小竹 聡、青柳麻衣子、笹本洋一、合田千穂、高橋光生
北大・眼科

22.SF-36を用いたベーチェット病患者の健康関連QOLの測定と検討

福原 俊一¹⁾、小竹 聡²⁾、合田千穂²⁾

東大・医科研¹⁾、北大・眼科²⁾

23.ベーチェット病の予後調査-中間報告-

稲葉 裕¹⁾、黒沢美智子¹⁾、藤野雄次郎²⁾、大野重昭³⁾、坂根 剛⁴⁾、

中江公裕⁵⁾

順大・医・衛生¹⁾、東大分院・眼科²⁾、横浜市大・眼科³⁾、

聖マリアンナ医大・難治研センター⁴⁾、獨協大・医・公衆衛生⁵⁾

24.ベーチェット病患者のMICA遺伝子タイピング

水木信久¹⁾、太田正穂²⁾、勝山義彦²⁾、安藤 等³⁾、矢吹和朗⁴⁾、

中村 聡⁴⁾、猪子英俊³⁾、大野重昭⁴⁾

横須賀共済病院眼科¹⁾、信州大・法医²⁾、東海大・分子生命科学³⁾、

横浜市大・眼科⁴⁾

25.ベーチェット病患者の $\gamma\delta$ T細胞と口腔内細菌の解析

内山竹彦¹⁾、田中義正¹⁾、加藤秀人¹⁾、宮永嘉隆²⁾、氏原 弘²⁾、稲葉午朗³⁾、

阿部廣幸⁴⁾、安藤智博⁴⁾、三浦 直⁵⁾、奥田克爾⁵⁾

女子医大・微生物・免疫¹⁾、女子医大第二病院・眼科²⁾、

仁厚会病院・内科³⁾、女子医大第二病院・口腔外科⁴⁾、

東京歯大・微生物⁵⁾

V. 研究成果の刊行に関する一覧表

VI. 第一回総会プログラム

VII. 第二回総会プログラム

I. 分科會員名簿

区分	氏名	所属	役職
分科会長	大野重昭	横浜市立大学医学部眼科学教室	教授
分科会員	猪子英俊	東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門	教授
	小野江和則	北海道大学免疫科学研究所病理部門	所長
	木村 穰	東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門	教授
	滝口雅文	熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野	教授
	藤野雄次郎	東京大学医学部附属病院分院	助教授
	吉崎和幸	大阪大学健康体育部健康医学第一部門	教授
研究協力者	太田正穂	信州大学医学部法医学教室	講師
	坂根 剛	聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター	教授
	橋本喬史	帝京大学医学部内科リウマチ・膠原病研究室	教授
	宮田幹夫	北里大学医学部眼科学教室	教授
	磯貝恵美子	北海道医療大学歯学部口腔衛生	助手
	小竹 聡	北海道大学医学部眼科学教室	講師
	福原 俊一	東京大学大学院医学系研究科	講師
(基礎班)	稲葉 裕	順天堂大学医学部衛生学教室	教授
	内山竹彦	東京女子医科大学微生物学免疫学	主任教授
難病特別研究員	水木信久	横須賀共済病院眼科	医員
事務局	杉田美由紀	横浜市立大学医学部眼科学教室	助教授
		〒236-0004 横浜市金沢区福浦3-9	
		TEL (045)787-2683 直通	
		FAX (045)781-9755	

II. 総合研究報告

総合研究報告書

厚生省特定疾患 臨床調査研究グループ

免疫疾患調査研究班 ベーチェット病分科会

研究課題名 ベーチェット病

主任研究者 大野重昭 横浜市立大学医学部眼科学教授

I 研究の概要

ベーチェット病は、口腔粘膜の再発性アフタ性潰瘍、結節性紅斑などの皮膚症状、再発性の汎ぶどう膜炎を主徴とする眼症状、外陰部潰瘍の4症状を主症状とする全身性疾患である。特に眼症状は我が国で頻度が高く、難治性で失明率の高い疾患である。さらに特殊病変として、腸管ベーチェット病、血管ベーチェット病、神経ベーチェット病があり、これらも有効な治療法が確立されておらず予後は不良である。本病の原因は未だ不明であるが、日本、中近東などのシルクロード沿いの地域に多発し、HLA-B51 (HLA-B*5101) と強い相関を示す事からその発症には遺伝的素因の関与が強く示唆されてきた。そこで、当ベーチェット病分科会は以下の2つの課題を中心に研究を行ってきた。

課題 I ベーチェット病の発症機構の解析

ベーチェット病は人種を超えてHLA-B51抗原と強く相関していることが今までの研究によって明らかにされている。このため本病発症に何らかの遺伝的背景（疾患感受性または病因遺伝子）が関与していることに疑いはなく、少なくともその1つは第6染色体短腕上のHLA領域に存在していると考えられる。しかし、本病の病因遺伝子はHLA-B51遺伝子そのものであるのか、それともHLA-B遺伝子近傍の他の遺伝子であるのかは未だ明確にされていない。そこで、HLA-B遺伝子近傍の構造解析を行い本病の病因遺伝子の同定を試みる。また、HLA-B51遺伝子そのものが本病の病因遺伝子であるかどうかを解析するためにB51分子結合ペプチドのモチーフを明かにし、そのモチーフに適合した外来抗原ペプチドを探索することによって本病特異的ペプチドのスクリーニングを計画している。また、患者リンパ球、好中球の機能解析や動物モデルを用いた研究で本病の免疫学的病態を解明する。

課題 II ベーチェット病の新しい薬物療法の開発

本病は口腔内アフタ、腸管の潰瘍、ぶどう膜炎、中枢神経症状などの症状を

示す全身の慢性炎症性疾患であり，治療にはステロイド薬，免疫抑制薬などが治療に用いられている．しかし，それらの薬剤のみでは十分な治療効果が得られない重症例もおおくみられる．そこで，動物モデルを用いて新しい治療薬の開発をめざし，さらに現在の治療の実態を疫学的調査やQOL調査によって正確に把握し，より質の高い治療の開発をめざす．

II 研究成果

課題 I ベーチェット病の発症機構の解析

ベーチェット病は人種を越えてHLA-B51と強く相関していることが明らかにされており，本病の発症に何らかの遺伝的要素が関与していることは間違いない¹⁾．しかし病因遺伝子はHLA-B51遺伝子そのものであるのか，あるいはB51遺伝子近傍の他の遺伝子であるのかは未だ明確にはされていない．ヒト第6染色体短腕上に位置するHLA遺伝子領域は，HLA遺伝子ばかりでなくHLAとは機能的には関係のない種々の遺伝子が存在しており，HLAと相関する疾患との関与が示唆されている．ベーチェット病の疾患感受性遺伝子の存在を解明するため，当ベーチェット病分科会ではHLAクラス I 遺伝子領域の約1,200 kbのゲノムの塩基配列を決定し，既知遺伝子，新遺伝子，STR (short tandem repeat, マイクロサテライト)を同定することにより，この領域のゲノムの構造解析を行った²⁾³⁾⁴⁾．HLA-B51抗原サブタイプの検索の結果，ベーチェット病と相関しているB51はHLA-B*5101対立遺伝子であった⁵⁾⁶⁾⁷⁾．一方，HLAホモ接合B細胞より作成したYACライブラリーを用いてクローニングされたHLA-B遺伝子周辺の解析により，HLA-B遺伝子と連鎖不平衡の関係にあるTNF- β 遺伝子との間に存在するマイクロサテライトの多型性を検討したところ，反復回数が14回のマイクロサテライトが患者群で有意に増加していた．しかもこの相関はHLA-B51陰性群における比較でも有意差がみられた事から，ベーチェット病の疾患遺伝子はHLA-B51遺伝子そのものではない可能性が示唆された⁸⁾．そこでさらにHLA-B, C遺伝子近傍の大規模なシーケンスを行い，この領域にNOB(new organization associated with HLA-B)1, NOB2, NOB3, MICA(MHC class I chain-related gene A), MICBという新しい非HLA遺伝子の存在が見出された⁵⁾⁹⁾．このうち，MICA遺伝子TM領域のマイクロサテライト多型解析を行なったところ，A6対立遺伝子(アリル)がベーチェット病患者で有意の高値を示した¹⁰⁾．MICA分子はV δ 1 γ δ T細胞に抗原提示し，何らかの特異的免疫反応に関

与する可能性が明らかにされているが、ベーチェット病では $\gamma\delta$ T細胞の機能亢進または異常が以前より報告されている。また、MICA遺伝子は線維芽細胞、上皮細胞特異的に発現する。一方ベーチェット病の病巣は外来抗原に暴露されやすい組織の線維芽細胞、上皮細胞であると考えられる。したがって、MICA遺伝子の染色体上の位置、類推される機能および発現様式、そして今回明らかにされたTM領域に存在する特定のマイクロサテライトアリル(A6)の顕著な上昇の事実から、MICAがベーチェット病発症に関わる有力な候補遺伝子と考えられた¹¹⁾。その後の詳細なマイクロサテライトマッピングにより本病の原因遺伝子はMICA~HLA-B遺伝子間46Kb領域に存在することが明らかとなった¹¹⁾。しかし、日本人以外の他の民族、ギリシャ人、ヨルダン人、イタリア人の本病患者群の解析を行い各民族間で比較検討することにより、本病の原因遺伝子の位置をさらに正確にマッピングした結果、HLA-B51抗原だけはどの民族においても本病と最も強く相関していた。したがって、本病の原因遺伝子はHLA-B51抗原遺伝子であることが示唆された。また、日本人の患者群と健康対照群を対象としてMICA遺伝子の多型性解析を行いHLA-B遺伝子と連鎖解析をしたところ、患者群ではHLA-B51抗原と連鎖しているMICA*009アリルのみが有意に増加しており、これはB51に引きずられてきたものであると考えられ、ベーチェット病HLA-B51抗原が病因発症に第一義的に働き、MICA遺伝子はこの疾患の活性化要因であると可能性が高いと考えられた。

一方、HLA-B51分子結合ペプチドの解析により、その三次元構造を明らかにし、本病特異的ペプチドのスクリーニングが行われた。HLA-B51に結合する自己抗原ペプチドを分離しアミノ酸解析し、その結合ペプチドのモチーフを明らかにした¹²⁾。このモチーフからペプチドを作製しHLA-B51分子とペプチドの結合を解析した。その結果1) HLA-B*5101結合ペプチドの2番目のアンカーはPro, Alaであり、一方C末端のアンカーは, Ile, Val, Leuなどのaliphatic hydrophobic residueである。2) 1番目のアミノ酸は, Ala, Pro, Glyのような小さい分子は結合しにくく、1番目のアミノ酸はsecondary anchorとなっている。3) HLA-B*3501結合ペプチドと比べて、結合力は著しく低かった。B*5101結合ペプチドの低結合性は、B*5101に特有のものであれば、ベーチェット病発症に関与するペプチドの提示に何らかの影響を与えていると考えられるので、そのペプチドの低結合性について検討した。Bw4陽性HLA-B抗原は低結合性の可能性が大きく、低結合性ペプチドはB*5101に特有でない事が示唆された¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。以上の研究よりHLA-B*5101結合ペプチドの性質がほぼ解明でき

たので、次にHLA-B*5101が提示するT細胞エピトープの同定を試みた。HLA-B*5101が提示するHIV-1 CTLエピトープを多数同定する事ができ、HLA-B*5101分子がCTLエピトープを提示できる事が明らかになった¹⁸⁾¹⁹⁾。

ところで、ベーチェット病の発生には、宿主側の疾患感受性因子（内因）とともに、何らかの外因が存在すると考えられ、*Streptococcus sanguis*は以前より外因の候補と考えられてきた²⁰⁾。そこで患者由来*S. sanguis*を無菌マウスに感染させ、疾患感受性を増大させるため熱ショックを粘膜に与えた系を作製し、口腔粘膜障害への関連が調べられた²¹⁾²²⁾。*S. sanguis*は無菌マウスの口腔によく定着し、熱ショックを粘膜に与えた系では粘膜障害は重度で治癒の遅延を示し消化管潰瘍での死亡も認めた。口腔局所における内在性サイトカインを定量するとIL-2, IL-6, IFN- γ , TNF- α が高いレベルで検出された。これらの結果から*S. sanguis*は障害を受けた粘膜に働きアフタ形成に関与するだけでなく全身応答も誘導することがわかった。また平成9年度の研究で、活動性ベーチェット病患者の末梢血単核球は、*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus sanguis*などのグラム陽性菌の細胞膜に存在するリポテイコ酸（LTA）刺激で有意に高いIL-8産生能を示すことが報告されたが²³⁾、今回はベーチェット病患者血清がこれらの細菌のもつLTAに対して高い抗体価をもつことが示され、これらの細菌あるいはLTAがベーチェット病の発症機序に関与している可能性が示唆された。

免疫動態に関する研究ではベーチェット病の特に眼症状のある患者末梢血Tリンパ球がヒトHSP60kDa由来の336-351番目のアミノ酸残基よりなるペプチドHU18に特異的な増殖反応を示すことを見出した²⁴⁾。HU18刺激末梢血単核球に誘導されるサイトカイン産生性は活動性と関連した動きを示した。寛解期の患者では、TNF- α , IFN- γ の他にIL-4, IL-10, TGF- β の産生を認め、in vitro実験でも、活動性患者由来のHU18刺激T細胞培養系へIL-4, IL-10, TGF- β を添加することでT細胞増殖は抑制された。この事実はTh2型, Th3型反応の誘導がB病を寛解する方向に作用することを示している。また、結節性紅斑出現時の皮膚病変局所ではIL-12, TNF- α , IFN- γ の産生が認められるのに対し、消退時にはこれらのサイトカインの他にIL-4, IL-10, TGF- β の産生が認められた。本病では免疫異常に加え、好中球の機能過剰も特徴的である。これまで指摘されていたeffector細胞としての異常にとどまらず、B病好中球は寛解期にあってもIL-1 α , TNF- α を自発的に産生し、特にTNF- α はオートクラインの機序により好中球のNF-kBの活性化を介してその寿命を延長してprimingされた好中球を大量

に局所に供給しうる状態にある。また、活動期には好中球によるIL-12, IL-18の産生を認めた。この異常は、上記の抗HSP自己免疫反応と独立したものではなく、むしろ、抗原特異的なTh1型反応と協調して、急性増悪期の病態形成に関与していると考えられた^{25) 26) 27) 28)}。さらに患者末梢血リンパ球の刺激に対する反応性とFas/Fas ligand (FasL) を介したアポトーシスの誘導について検討した。患者のT細胞は活性化マーカーの発現が亢進していたが、OKT-3刺激に対する反応性は低かった。活動性患者ではOKT-3刺激後、抗Fas抗体によりアポトーシスが誘導されなかった。活動性患者群のリンパ球は軽度の活性化状態にあるものの刺激に対する応答が少なくアポトーシスの誘導が抑制されており、これが眼炎症の遷延化に関与している可能性が示唆された²⁹⁾。また、ベーチェット病末梢血リンパ球はFasLを過剰に発現し、ベーチェット病皮膚病変部ではFasL陽性細胞ならびにTUNEL陽性細胞が認められたことよりベーチェット病皮膚病変部ではFas/FasLを介したアポトーシスが起こり、ベーチェット病病変部の病態形成において一定の関与をしている可能性が示唆された^{25) 26)}。

課題 II ベーチェット病の新しい薬物療法の開発

実験的抗原誘導性ブドウ膜炎 (EAU) は、ベーチェット病の眼症状の動物モデルであり、また腸管ベーチェット病のモデルとして腸炎モデルマウスが新しい薬物療法の開発に用いられた。ロイコトリエンB4 (LTB4)はアラキドン酸代謝産物で、強い好中球遊走活性を有する炎症性メディエーターとして知られている。このLTB4受容体拮抗剤を実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎(EAU)動物モデルに経口投与し、眼組織への炎症細胞浸潤の減少、網膜剥離等の活動性ぶどう膜炎の所見の軽減を組織学的に証明した³⁰⁾。またEAUにおいてLPS刺激後の血中TNF- α 濃度が、免疫9日以降有意に上昇し、この時期に抗TNF- α 抗体にての治療でEAUは抑制された。この結果から、ベーチェット病の抗TNF- α 抗体治療が有用である可能性が示唆された³¹⁾。エンドトキシン誘発ぶどう膜炎 (EIU)を用いた実験では、有色家兔の眼球から分離回収した網膜色素上皮保護蛋白(RPP)をEIU硝子体内に注入し、硝子体蛋白濃度の有意差な低下と網膜における過酸化脂質量の有意差がみられ、EIUにおいてRPPは網膜組織障害を軽減させる作用を有し、RPPがぶどう膜炎の治療薬になる可能性が示された。また、本邦で開発された新しい免疫抑制剤FTY720の点眼薬を作成し、実験的自己免疫性前部ぶどう膜炎に対する効果を検討された^{32) 33) 34)}。ラットをメラニン抗原で免疫し、1日4回のFTY720点眼薬で治療すると、免疫当日からの点眼実験

では、FTY720点眼群では用量依存的にぶどう膜炎の発症が抑制されたが、発症日から点眼した治療実験においても、FTY720点眼群はぶどう膜炎の炎症を抑制し治療効果が認められた。FTY720のぶどう膜炎に対する抑制効果は点眼した眼のみならず、点眼していない眼においても認められた。次にワクチンによる治療が検討された。EAUを誘導する抗原ペプチドK2をリポソームで封入しマウスを免疫する前にあらかじめ皮下に投与しておき、その後K2, CFAで免疫しすると、EAU発症は抑制された。また、免疫10日後のマウスより採取したT細胞の抗原ペプチドに対する増殖反応を測定するとT細胞反応は強く抑制された。これらの結果より、リポソーム封入抗原の前投与により自己免疫疾患の発症が抑制される可能性が示唆され、抗原による減感作療法の可能性が示唆された³⁵⁾³⁶⁾。腸管ベーチェット治療を目標として炎症性腸疾患のモデルマウスを用いて抗IL-6受容体抗体による治療実験では、Balb/c SCIDマウスにCD4+CD45RB high T細胞とIFN- γ を投与し腸炎モデルマウスを作成し、これに抗IL-6受容体抗体を投与すると腸炎の部分的改善が見られた。この結果から、抗IL-6レセプター抗体による腸管ベーチェット治療への応用が示唆された³⁷⁾。

抗サイトカイン療法に関しては、本病の患者血清でTNF- α が高値をしめし、EAU動物モデルにおいてもTNF- α の産生増加がみられることより、TNF- α が深く関与していると考えられこの活性を阻害することによって新たな治療が展開すると期待される。セントコア社の開発したキメラ型抗TNF α 抗体(cA2)による重症ブドウ膜炎をもつベーチェット病患者への治療試験を準備中であるが、キメラ型はFab部分がマウス抗体でFc部分をヒト抗体にした抗体であるため、cA2投与により、この抗体に対する抗体が出現しやすく、抗体活性の低下のみならずアナフィラキシー出現の危険性も否定できない。このためゼノマウスを用いてヒト抗体作成を試みた。免疫グロブリンのD-J再結合に必要なDNA上のシス作用配列を破壊する置き換えベクターを導入したES細胞を用いてマウス免疫グロブリンの発現を欠くマウスを作成し、次にヒト免疫グロブリン遺伝子をES細胞の染色体に取り込ませたマウスを作成した。この2種のマウスの交配してヒト抗体を産生するゼノマウスを作り、ヒトTNF- α 、IL-8に対するヒトモノクローナル抗体を産生させる予定である。これによって、より安全な抗サイトカイン治療の展望が開けた。

また、実際の臨床の場で行われている治療に関して疫学的な検討がなされた。ベーチェット病患者の治療状況を調べ、第1選択としてコルヒチン治療を行なった場合の治療成績が報告された。眼症状を有するベーチェット病患者81例の

うちコルヒチンを用いた40例では約60%に眼発作の抑制が得られ、眼症コントロール良好と判断された。この結果は、過去の報告と一致し、内服治療のいない患者を合わせると、眼症を有する患者の約70%は無治療またはコルヒチンまでの治療で眼症を抑えられると考えられた。次の段階としてのシクロスポリン単独治療は効果的でなく、シクロスポリンとコルヒチンの併用により残りの半数弱で眼症コントロールが可能であった。しかし、なおコントロール不良例が多数存在する事がわかった。また、シクロスポリン投与ベーチェット病患者の長期経過が報告された。シクロスポリン投与開始後、3年以上経過を追えた、ベーチェット病患者39例のシクロスポリン投与量の推移、効果、副作用、併用薬剤につき調査した。シクロスポリン初回投与量は5mgが28例で最も多かった。投与開始後の平均投与量は徐々に減少し5年後には3.9mgであった。一方1年後50%、3年後67%、5年後85%の症例で発作回数の減少がみられた。副作用は、腎機能障害が20例と最も多く、次いで中枢神経症状を11例認めた。併用薬剤については、コルヒチンの併用が必要であった症例が20例と最も多くかった。シクロスポリン内服中に神経症状を発症した患者の眼症状経過をみると、神経症状治療のためステロイド全身投与を行なった症例と行なわなかった症例で最終視力に差はなかったが、シクロスポリン投与が短期間のうちに神経症状を発症した症例の最終視力は不良であったことから、シクロスポリン投与後早期に神経症状を発症した例では治療に工夫が必要であり、神経症状の再発に注意しつつもシクロスポリン継続も考慮する必要があると考えられた³⁸⁾。

本病の特殊病型の1つである進行性神経ベーチェット病に対するメソトレキセート(MTX)少量パルス療法の有効性及び安全性について検討された。進行性の精神神経症状を有するベーチェット病患者8例に対し、MTXを開始投与量 6.9 ± 2.2 mg/週、維持投与量 8.5 ± 3.8 mg/週、1年後投与量 9.1 ± 3.5 mg/週で投与した。1年間のMTX投与後、髄液IL-6の有意な低下が認められた。IQ値及びMRI所見はMTX投与前に比し有意な変化はみられなかった。MTX少量パルス療法は髄液IL-6の低下で反映されるように、中枢神経内の免疫反応を抑制することが明らかになった³⁹⁾。8例中3例で若干の進行が認められたものの、全体としてはIQ値やMRIの有意の変動は見られず、その有効性に十分期待がもたれた。

さらにより質の高い治療をめざすためにベーチェット病の予後を調査およびQOL調査が行われた。予後調査は、1991年に行われた全国調査の2次調査個人票を基に対象施設宛に平成10年8月に予後調査票を送付し集計した。2次調査票は777例を対象とし、回収率は78.5%であった。そのうち現在の受療状況が

把握できたのはその中の約半数であった。回収例の性・年齢分布と調査対象者の分布に大きな差は見られず、追跡可能例の最近1年間の経過は症状固定・不変が約7割強で軽快が2割弱、悪化や死亡は僅かであった。また、SF-36を用いたベーチェット病患者の健康関連QOLの測定と検討を行った。本研究では、ベーチェット病患者が、自身の健康度を、一般の国民と比較してどの側面でどの程度低く認識しているのかを、主観的健康指標のひとつであるSF-36を用いて検討した。対象患者全体のSF-36スコアは、国民標準値に比べて有意に低下しており、眼以外の病変である関節病変、腸病変のあるものに有意なQOLの低下を認めた。今後、活動性の高い群・眼病変なしの群など広範な患者群を対象とした観察研究、眼疾患特異的尺度の開発、縦断的研究、そして介入研究を進めることが必要であることが考えられた。

III 残された課題

3年間の研究の結果、ベーチェット病の原因遺伝子はMICA~HLA-B遺伝子間のマイクロサテライトMIBを頂点とした近傍領域に存在する、HLA-B51遺伝子、MICA遺伝子、NOB1,NOB2,NOB3のいずれかであると考えられる。これらの遺伝子を中心に今後さらに患者群と正常対照群との統計学的な比較検討をすすめ原因遺伝子を決定する。さらに原因遺伝子を導入したトランスジェニックマウス、抗原結合蛋白の解析、疾患の動物モデルを用いて本病の発症機構、炎症症状を発現させるサイトカインの関与、炎症を遷延させる免疫学的な病態をより明らかにする。また、本病の炎症にTNF- α が深く関与している事実が明らかにされたことから眼症状の新しい治療として抗TNF- α 抗体による治療が計画されているが、これを早期に実施するよう努力し、投与量を始めとして薬剤の投与方法を確立し、その効果、副作用を正しく評価して安全かつ有効に使用できるような指針を作成する。また、疫学調査、予後調査、QOL調査を更に進め患者側の視点に立ったより質の高い治療法を確立する。

III. 総括研究報告

総括研究報告書

厚生省特定疾患 臨床調査研究グループ

免疫疾患調査研究班 ベーチェット病分科会

研究課題名 ベーチェット病

主任研究者 大野重昭 横浜市立大学医学部眼科学教授

I 研究の目標と概要

課題 I ベーチェット病の発症機構の解析

ベーチェット病は人種を越えてHLA-B51抗原と強く相関していることが明らかにされており、特定の遺伝的背景のもとに、何らかの外的要因が作用して発症すると考えられている。平成9年度の当分科会の研究成果として本病の原因遺伝子はMICA~HLA-B遺伝子間のマイクロサテライトMIBを頂点とした近傍領域に存在する可能性が示唆された。本年度はこの領域の全塩基配列の解析をすすめる。本病の原因遺伝子の正確なマッピングを試みる。また、患者リンパ球、好中球の機能解析や動物モデルを用いた研究で本病の免疫学的病態を解明する。

課題 II ベーチェット病の新しい薬物療法の開発

本病は口腔内アフタ、腸管の潰瘍、ぶどう膜炎、中枢神経症状などの症状を示す全身の慢性炎症性疾患であり、治療にはステロイド薬、免疫抑制薬などが用いられている。しかし、それらの薬剤のみでは十分な治療効果が得られない重症例もおおくみられる。平成9年度の研究成果では動物モデルにおいて、眼症状の治療に網膜色素上皮保護蛋白(RPP)、新しい免疫抑制薬FTY720の点眼薬、抗TNF- α 抗体の有効性がしめされ、腸管ベーチェット治療には抗IL-6レセプター抗体による効果が示唆された。また、進行性神経ベーチェット病患者に対するメトトレキサート(MTX)少量パルス療法の有効性が報告された。今年度はこれらの方法に加えさらにその他の新しい治療法についても検討する。さらに、患者の予後調査、QOL調査などを行いより質の高い治療の開発をめざす。

II 研究成果

課題 I ベーチェット病の発症機構の解析

平成9年度までに行われた本病の原因遺伝子解明の研究では、原因遺伝子はMICA~HLA-B遺伝子間46 kbの領域でマイクロサテライトMIBを頂点とした近

傍領域に存在する可能性が非常に高いことが示唆された¹⁾。したがって、本病の原因遺伝子はHLA-B遺伝子またはMICA遺伝子のどちらかであると考えられるため、本病患者群を64人、健康対照群119人を対象としてMICA遺伝子の多型性解析を行い、HLA-B遺伝子と連鎖解析をすることにより本病の原因遺伝子特定に努めた。これらの統計学的解析から対照群ではHLA-B51, B52の各抗原と連鎖しているMICA*009アリルが均等に増加しているのに対し、患者群ではHLA-B51抗原と連鎖しているMICA*009アリルのみが有意に増加していた (P=0.00004)。このMICA*009アリルの増加はB51に引きずられてきたものであると考えられ、多因子性遺伝疾患であるベーチェット病HLA-B51抗原が病因発症に第一義的に働き、MICA遺伝子はこの疾患の活性化要因と考えられた。このHLA-B51抗原が原因遺伝子であればこれに結合するペプチドの解析によって抗原蛋白を同定できる可能性があり、これまでの研究がなされてきた²⁾³⁾⁴⁾。HLA-B*5101結合ペプチドはHLA-B*3501結合ペプチドと比べてそのaffinityが著しく低い事が明らかされたが、HLA-B*5301の α 1ドメインはB*5101と、 α 2ドメインはB*3501と同一であり、結合ペプチドのモチーフもB*5101, B*3501と同様であると考えられている事から今年度はHLA-B*5301結合ペプチドのaffinityを調べた⁵⁾⁶⁾。C末端のモチーフを調べた所、幅広い疎水性のアミノ酸残基がアンカーになっていた。さらにC末端のアミノ酸に関係なくB*5301へのペプチドのaffinityは著しく低下していた。B*5301とB*3501はBw4/Bw6エピトープのみが異なっている事から、そのaffinityの違いは、この部位のアミノ酸置換によるものと考えられた。

MICA-HLA-B遺伝子間46kbには、MICA,HLA-Bの他にNOB1,NOB2,NOB3の計5個の遺伝子が見出されているが⁷⁾、このうち、MICA遺伝子TM領域のマイクロサテライト多型解析を行なったところ、A6対立遺伝子(アリル)がベーチェット病患者で有意の高値を示した⁸⁾。MICA分子はV δ 1 γ δ T細胞に抗原提示し、何らかの特異的免疫反応に関与する可能性が明らかにされているが、ベーチェット病では γ δ T細胞の機能亢進または異常が以前から報告されている⁹⁾。MICA遺伝子は線維芽細胞、上皮細胞に特異的に発現し、5'上流領域にHSP(熱ショック蛋白)遺伝子プロモーター領域と同様の配列をもつことから、熱ショックによりその発現が著しく増加する。ベーチェット病患者では細菌HSP60およびそのヒトホモログHSPに対する特異的 γ δ T細胞応答・増殖が報告されている¹⁰⁾。一方ベーチェット病の病巣は外来抗原に暴露されやすい組織の線維芽細胞、上皮細胞であると考えられる。したがって、MICA遺伝子の染