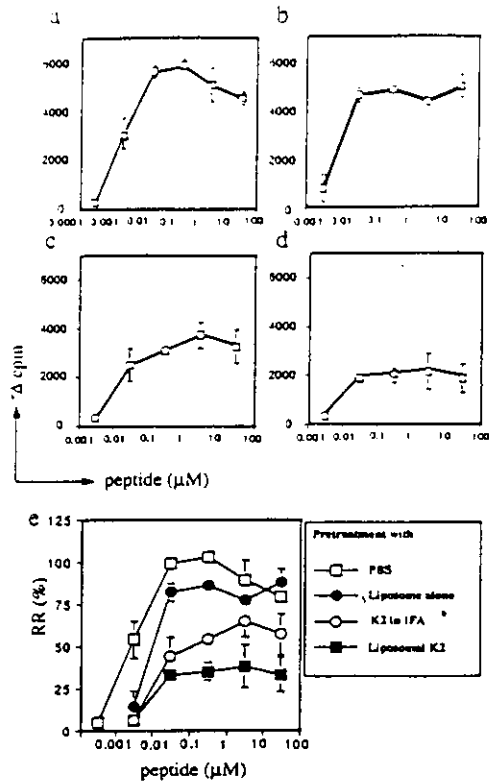
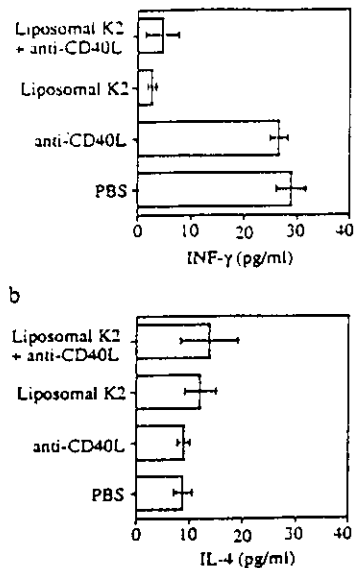


図 1



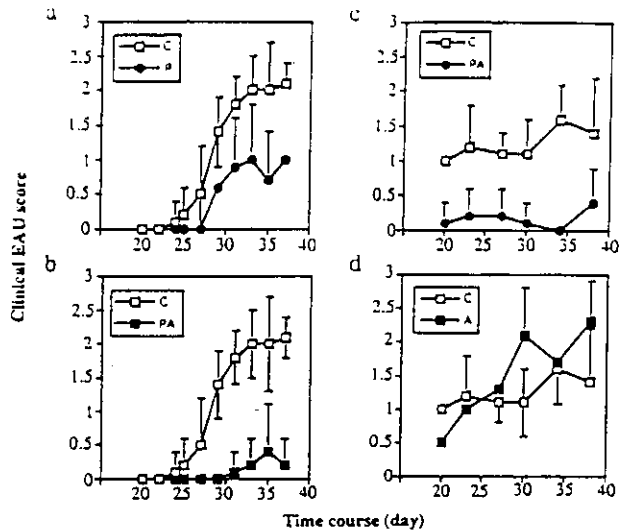
殖反応低下が、アナジーによるものであることを DO11.10 トランスジェニックマウスの T 細胞を用いた実験で明らかにした。また、リポソーム封入 K2 で処理した B10.BR マウスの T 細胞では、IFN- γ 産生が著明に低下していたが、IL-4 産生に影響は見られなかった (図 2)。従って、アナジーは Th1 に誘導されたと考えられた。

図 2



EAU は Th1 によって惹起される。そこで、EAU 発症に対するリポソーム封入 K2 と抗 CD40L 投与の影響を検討した。リポソーム封入 K2 投与 (P) は EAU の発症と重症度を著明に抑制した (図 3a)。さらに CD40L 同時投与によって (PA)、EAU は完全に抑制されることが判明した (図 3b)。しかし、抗 CD40L 単独による前処理では、抑制効果は見られなかった (図 3c)。

図 3

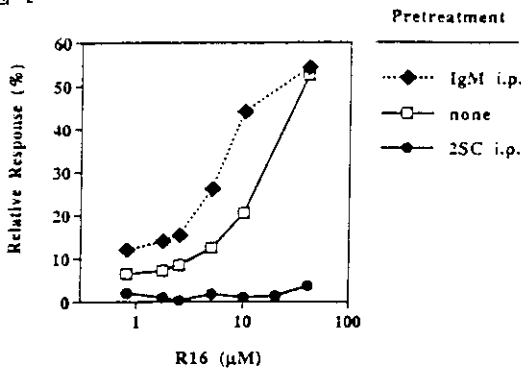


2. 抗 MIF 単クローン抗体投与によるラット EAU 制御

LEW ラットの T 細胞、NK1.1⁺ 細胞はいずれも活性化状態で MIF mRNA が亢進しており、MIF は細胞活性化に何らかの作用をしている可能性が示唆された。次に、抗 MIF 抗体を用いて、R16 で免疫したラットリンパ節由来 T 細胞の抗原特異的増殖反応に対する影響を検討したところ、T 細胞増殖反応は抗体の濃度依存性に抑制された。また Th1、Th0 クローンにおいても反応は抑制された。これら T 細胞クローンを IL-2 または PMA で刺激し、抗 MIF 抗体を加えたところ、IL-2 で刺激する場合には抗 MIF 抗体は効果はないが、PMA で刺激した場合には増殖反応が抑制された。しかし、抗 MIF 抗体は胸腺由来、脾臓由来 NK-T 細胞の IL-4 産生には影響を与えなかった。抗 MIF 抗体は in vivo においても in vitro と同様に抗原特異

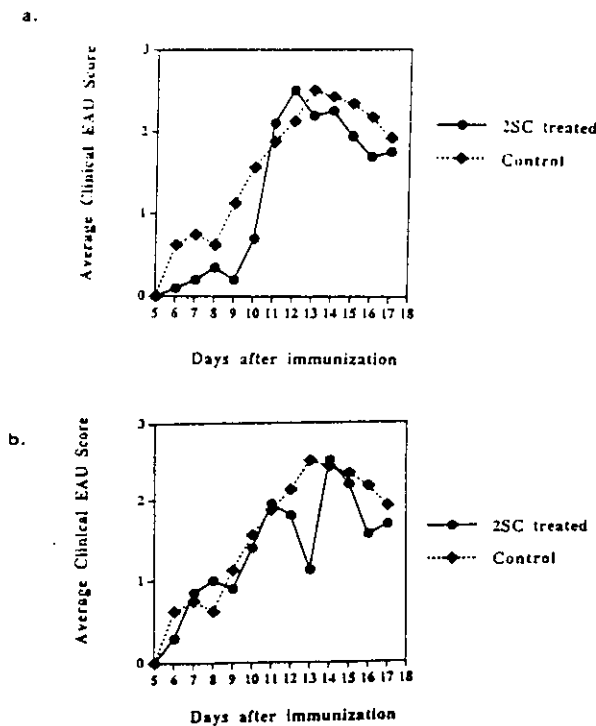
的 T 細胞増殖反応に対し、抑制効果を示した (図 4)。

図 4



最後に、前眼部炎症の臨床経過を検討したところ、免疫後早期に抗 MIF 抗体を投与したラットでは、前眼部炎症の発症時期が遅れが見られるが (図 5a)、EAU 発症後に抗体投与を開始したラットでは差が見られなかった (図 5b)。

図 5



同じラットの後眼部ぶどう膜炎の評価をするため、免疫後 19 日での組織学的重症度を検討した。免疫後 1 週間以内の inductive phase に抗 MIF 抗体を投与した群では発症

日が遅れ、さらに組織学的にも軽症化した。一方、免疫 8 日後以降に投与を開始した群では、対照群と有意差は見られなかった。

D. 考察

リポソーム封入ペプチドが、Th1 アナジーを誘導することが判明した。機序としては、リポソームが樹状細胞などの APC に容易に取り込まれ、APC の他の補助分子が発現する以前に Th1 にペプチド抗原が提示されること、即ち T 細胞活性化に必要な第二のシグナル無しで、TCR と MHC ・抗原結合による第一のシグナルのみが入るためと考えられた。抗 CD40L 抗体は、さらに APC に入る刺激を抑制し、このアナジー誘導を促進すると考えられた。リポソーム封入ペプチドと抗 CD40L の皮下投与は、他に副作用が無く、特にシェーグレン症候群のように標的抗原が同定された疾患においては、抗原特異的アナジーを誘導する臨床応用が可能と考えられた。ベーチェット病においても、Th1 の活性化が報告されており、標的抗原の同定が必要である。

MIF の細胞内レセプターは未だ不明であるが、抗 MIF 抗体はプロテインキナーゼ C より下流に作用して直接 T 細胞活性化を抑制し、EAU を軽症化したと考えられた。又、ヒトにおいて MIF と副腎皮質ホルモンとは脳下垂体を介して拮抗性のバランスを保っている可能性があり、ベーチェット病など全身性炎症性疾患における高 MIF 血症と、抗 MIF 抗体による EAU の軽症化の詳細な機序を現在検討中である。

E. 結論

ベーチェット病の実験モデル (EAU) を使い、EAU の制御法を開発した。リポソーム封入抗原ペプチドと抗 CD40L 単クローン抗体投与は、マウスの Th1 細胞にアナジーを誘導すること、抗 MIF 抗体投与はラット T 細胞のシグナル伝達系を直接抑制することにより、EAU を抑制することが判明した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takahashi, A., Iwabuchi, K., Suzuki, M., Ogasawara, K., Nishihira, J. and Onoé, K.: Antisense macrophage migration inhibitory factor (MIF) prevents anti-IgM mediated growth arrest and apoptosis of a murine B cell line by regulating cell cycle progression. *Microbiol. Immunol.* 43(1), 61-67, 1999.
- 2) Matsuki, N., Ogasawara, K., Takami, K., Namba, K., Takahashi, A., Fukui, Y., Sasazuki, T., Iwabuchi, K., Good, R.A. and Onoé, K.: Prevention of infection of influenza virus in DQ6 mice, a human model, by a peptide vaccine prepared according to the cassette theory. *Vaccines* 17, 1161-1168, 1999.
- 3) Kitaichi, N., Kotake, S., Sasamoto, Y., Namba, K., Matsuda, A., Ogasawara, K., Onoé, K., Matsuda, H. and Nishihira, J.: Prominent increase of macrophage migration inhibitory factor in the sera of patients with uveitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 40, 247-250, 1999.
- 4) Hatakeyama, S., Kitagawa, M., Nakayama, K., Shirane, M., Matsumoto, M., Hattori, K., Higashi, H., Nakano, H., Okumura, K., Onoé, K., Good, R.A. and Nakayama, K.: Ubiquitin-dependent degradation of I κ B α is mediated by a ubiquitin ligase Skp1/Cul1/F-box protein FWD1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96, 3859-3863, 1999.
- 5) Kitaichi, N., Ogasawara, K., Iwabuchi, K., Nishihira, J., Namba, K., Onoé, Kazuy., Konishi, J., Kotake, S., Matsuda, H., and Ono, Kazun.: Different influence of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in signal transduction pathway of various T cell subsets. *Immunobiol.* 201, 356-367, 1999.
- 6) Ato, M., Iwabuchi, K., Matsuki, N., Mukaida, N., Iwabuchi, C., Takahashi, A., Takayanagi, T., Dondog, E-A., Hatakeyama, S., Ishikura, H., Kato, M., Negishi, I., Nishihori, H., Ogasawara, K., Matsushima, K., and Onoé, K.: Delayd clearance of zymosan-induced granuloma and depressed phagocytosis of macrophages with concomitant up-regulated kinase activities of src-family in a human monocyte chemoattractant protein-1 transgenic mouse. *Immunobiol.* 201, 432-449, 1999.
- 7) Kitaichi, N., Matsuda, A., Kotake, S., Namba, K., Tagawa, Y., Sasamoto, Y., Ogasawara, K., Iwabuchi, K., Onoé, K., Matsuda, H., and Nishihira, J.: Inhibition of experimental autoimmune uveoretinitis with anti-macrophage migration inhibitory factor antibodies. *Current Eye Research* 20(2), 109-114, 2000.
- 8) Ito, D., Ogasawara, K., Iwabuchi, K., Inuyama, Y., and Onoé, K.: Induction of CTL responses by simultaneous administration of liposomal peptide vaccine with anti-CD40 and anti-CTLA-4 mAb. *J. Immunol.* 164, 1230-1235, 2000.
- 9) Ito, D., Ogasawara, K., Matsushima, K., Morohashi, T., Namba, K., Matsuki, N., Kitaichi, N., Inuyama, Y., Hosokawa, M., Nakayama, E., Iwabuchi, K., and Onoé, K.: Effective priming of cytotoxic T lymphocyte precursors by subcutaneous administration of peptide antigens in liposomes accompanied with anti-CD40 and anti-CTLA-4 antibodies. *Immunobiology.* (in press)
- 10) Izutsu, Y., Tochinal S., and Onoé, K.: Loss of reactivity to pan-cadherin antibody in epidermal cells as a marker for metamorphic alteration of xenopus skin. *Dev. Growth. Diff.* (in press).

- 11) Izutsu, Y., Tochinali, S., Iwabuchi, K., and Onoé, K.: Larval antigen molecules recognized by adult immune cells of inbred *xenopus laevis*; Two pathways for recognition by adult splenic T cells. *Develop. Biol.* (in press).
- 12) Namba, K., Ogasawara, K., Kitaichi, N., Morohashi, T., Sasamoto, Y., Kotake, S., Matsuda, H., Iwabuchi, K., Ohno, S., and Onoé, K.: Amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis (EAU) by pretreatment with a pathogenic peptide in liposome and anti-CD40 ligand mAb. *J. Immunol.* (submitted).
- 13) 小野江和則, 荒波利昌: (特集) NKT細胞の分化と胸腺環境. *臨床免疫*, 31(1), 7-13, 1999.
- 14) 小野江和則: (総説) NKT細胞の分化と胸腺. *臨床免疫*, 32(2), 215-221, 1999.
- 15) 小野江和則: 移植免疫の基礎. 北海道医報「生涯教育シリーズ XII 移植医療」, 934, 10-14, 1999.
- 16) 岩渕和也, 岩渕千雅子, 根岸 泉, 刀裨さおり, 小笠原一誠, 小野江和則: ZAPノックアウトマウスにおける T細胞、NKT細胞分化. *アレルギー科*, 8(3), 227-237, 1999.
- 17) 小野江和則: 「運動生理・生化学辞典」大野秀樹他編, 大修館書店, 東京, (印刷中)
- 18) 小野江和則: 免疫寛容. 「肝臓移植の実際」藤堂 省編, 日本医学館, 東京, (印刷中)
- 19) 小野江和則, 諸橋大樹: (解説) キラー T細胞活性化における骨髄由来抗原提示細胞の役割 (Cross-presentation). *臨床免疫*, (印刷中)
- 20) 伊藤大祐, 小野江和則: 抗 CD40 及び抗 CTLA-4 モノクローナル抗体と抗腫瘍ペプチドワクチン同時投与による細胞傷害性 T細胞誘導. *臨床免疫*, (印刷中)
2. 学会発表
- 1) 小野江和則: 特別講演 NK-T細胞の分化と機能. 第18回日本胸腺研究会, 1999. (於 仙台)
- 2) 岩渕和也, 小笠原一誠, 阿戸 学, 小野江和則: ZAP-70 ノックアウトマウスを用いた NK1.1 陽性 T細胞分化の研究. 第88回日本病理学会総会 1999. (於 東京)
- 3) 阿戸 学, 岩渕和也, 小笠原一誠, 小野江和則: ヒト単球走化活性化因子 (MCAF/MCP-1) トランスジェニックマウスにおける LPS 感受性亢進のメカニズム. 第88回日本病理学会総会, 1999. (於 東京)
- 4) 阿戸 学, 岩渕和也, 小野江和則: マウスアログラフト炎症因子 (AIF) に対する単クローン抗体作製と組織分布の検索. 第39回日本リンパ網内系学会総会, 1999. (於 名古屋)
- 5) Mizumoto, N., Iwabuchi, K., Nakamura, H., Shibaki, A., Kawashima, T., Kobayashi, H., Iwabuchi, C., Ogasawara, K., Ohkawara, A., and Onoé, K.: Analysis of Contact Hypersensitivity Response in Human Monocyte Chemoattractant Protein-1 Transgenic Mice. The 60th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology 1999. (於 Chicago)
- 6) Kitaichi, N., Namba, K., Ogasawara, K., Kotake, S., Sasamoto, Y., Matsuda, H., and Onoé, K.: Inhibition of eau by pretreatment of H-2A^k mice with liposomal peptide. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 1999. (於 Florida)
- 7) Sasamoto, Y., Kitaichi, N., Kotake, S., Matsuda, A., Nishihira, J., and Onoé, K.: Prominent increase macrophage migration inhibitory factor in the sera of patients with uveitis. The Association for Research in Vision and Ophthalmology

- (ARVO) 1999. (於 Florida)
- 8) 綿野敬子, 藤井 聡, 石森直樹, 北島 顕, 岩 渕 和 也, 小 野 江 和 則 : マウス allograftinflammatoryfactor-1(AIF-1cDNA) のクローニングおよび、組織分布の解析. 第 63 回日本循環器免疫学会総会, 1999. (於 東京)
- 9) 石森直樹, 葛西瑞穂, 綿野敬子, 藤井 聡, 北島 顕, 岩 渕 和 也, 永田純一, 小野江和則, 千葉仁志 : 骨髄由来細胞は動脈硬化病巣進展を規定する~apo E ノックアウト(KO)マウスを用いた検討. 第 5 回 Circulation Club (心血管病変と生理活性物質), 1999. (於 福岡)
- 10) 荒浪利昌, 岩 渕 和 也, 小 野 江 和 則 : NKT 細胞による syngeneic MLR の制御. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- 11) 北市伸義, 小笠原一誠, 岩 渕 和 也, 西平順, 小竹 聡, 小野江和則 : T 細胞シグナル伝達系路におけるマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の作用. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- 12) 諸橋大樹, 小笠原一誠, 岩 渕 和 也, 小野江和則 : マイナーまたは MHC クラス I_b 抗原単独で誘導される GVHR. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- 13) 刀裨さおり, 岩 渕 和 也, 岩 渕 千 雅 子, 根岸 泉, 小野江和則 : 胸腺器官培養系を用いた ZAP-70 遺伝子欠損マウスにおける NK-T 細胞の分化機構の解析. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- 14) D. ENKH-AMAR, K. Iwabuchi, K. Onoé: Phagocytosis and acetyl-LDL uptake are downregulated in a murine macrophage cell line, J774A.1, overexpressing rat csk. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- 15) 小野江和之, 岩 渕 和 也, 岩 渕 千 雅 子, 小西 純, 小野江和則 : ループモデルマウスにおける NK-T 細胞の減少と NK-T 細胞の補体感受性との関連. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- 16) 小西 純, 岩 渕 和 也, 阿戸 学, 岩 渕 千 雅 子, 小野江和之, 小野江和則 : aly マウス胸腺内への正常胸腺髄質上皮細胞移入による NK-T 細胞の誘導. 第 29 回日本免疫学会総会・学術集会, 1999. (於 京都)
- G. 知的所有権の取得状況
なし

網膜色素上皮細胞培養上澄み液(RPE-CS)の オルニチン網膜症に対する作用に関する研究

分担研究者	藤野雄次郎	東京厚生年金病院眼科
	沼賀二郎、蕪城俊克	東京大学医学部眼科
	上甲覚、川島秀俊	東京大学医学部眼科
	石井康雄	総合新川橋病院眼科
	清水一之、松元俊	東京逋信病院眼科

研究要旨 網膜色素上皮細胞培養上澄み液の実験的オルニチン網膜症に対する作用を病理組織学的に検討した。網膜色素上皮細胞培養上澄み液およびオルニチン網膜症の作成には有色家兎を用いた。0.5 M/lのL-ornithine hydrochlorideを硝子体中に注入し、同時に治療群には網膜色素上皮細胞培養上澄み液を、対照群には熱非活性化した網膜色素上皮細胞培養上澄み液を注入した。5日目に眼球摘出を行ない検討した。対照群は従来 of 報告と同様に網膜色素上皮および網膜外層の組織障害が観察された。一方、治療群では極く軽度の網膜色素上皮の障害がみられたのみであった。網膜色素上皮細胞培養上澄み液にはオルニチンによる網膜組織障害を軽減させる作用があると考えられた。

A. 研究目的

網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium; RPE) 細胞は網膜の最外層に位置し、ブルッフ膜を介して脈絡膜毛細血管板に接しており、血液網膜関門の形成や視細胞の栄養、代謝に関与し、網脈絡膜の機能を正常に維持する上で重要な役割を担っている。主な役割としては視細胞外節の食食、ビタミンA及び細胞内レチノイド蛋白の代謝、細胞外マトリックスの合成、イオン、電解質及び液体の輸送、メラニン合成、視細胞微小循環の維持などがある¹⁾。また近年、神経成長因子、塩基性線維芽細胞増殖因子、形質転換成長因子、血管内皮細胞増殖因子、血管新生因子、血管新生抑制因子、insulin-like growth factor binding protein-2などの様々なサイトカインを分泌することも明かにされた¹⁾。さらに過酸化脂質やスーパーオキシ

ドを介して抗炎症作用を有する網膜色素上皮保護蛋白も報告され注目されている²⁾。本実験ではRPEや脈絡膜毛細血管板を選択的に障害するオルニチンを用いたオルニチン網膜症モデル^{3)~5)}に対するRPE細胞培養上澄み液(RPE-CS)の作用を病理組織学的に検討した。

B. 研究方法

1. RPE細胞の培養方法

Wuらの方法で施行した²⁾。RPE培養液は10% fetal bovine serum 及び抗菌薬を添加したMEM溶液を用いた。有色家兎の眼球を摘出後、眼球を角膜輪部よりやや後方で開き、角膜、水晶体、硝子体を除去、さらに神経網膜を除去した後、RPEを分離した。培養開始後7日間前後のconfluentになったRPE細胞を用いた。

2. RPE細胞培養上澄み液(RPE-CS)の作成

RPE細胞 1.0×10^5 /mlにて4時間37°Cで

培養したHank's balanced salt solutionの上澄み液をRPE-CSとして用いた。注入するRPE-CSはタンパク量が8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のものを使用した。

3. RPE障害モデルの作成

成熟有色家兎（体重1.5-2.0kg）8羽16眼を用いた。うち6羽はオルニチン注入群、また残りの2羽は対照群として用いた。0.5 M/lのl-ornithine hydrochloride生理食塩水溶解液30 μl を30G注射針を用いて毛様体扁平部より硝子体内に注入した。また同時に右眼には熱非活性化したRPE-CS（対照群）、左眼にはRPE-CS（治療群）をそれぞれ70 μl を注入した。

4. 組織学的検討

オルニチン注入5日目に眼球摘出を行ない、直ちに2.5%グルタルアルデヒド、0.2Mリン酸塩緩衝液中にて前固定後、2%四酸化オスミウム・リン酸緩衝液の等量混合液で90分間後固定した。エタノールで脱水、プロピレンオキサイドで置換後、エポック8/12樹脂にて包埋した。ultraマイクロトームを用いて1 μm の厚切切片を作製後、トルイジンブルー染色し、光学顕微鏡にて観察した。超薄切片は酢酸ウラニル・クエン酸鉛で二重染色後、JEM1200型電子顕微鏡にて観察した。

C. 研究結果

光顕では対照群は治療群と比較し網膜の厚さは軽度に浮腫様に肥厚していた。視神経線維層に多数の空胞化、外顆粒層の配列の乱れ、視神経外節とRPE間が離開している部位ではマクロファージが多数浸潤し、RPEも浮腫様に肥厚していた。一方治療群では、内境界膜に接し多数のリンパ球やマクロファージ、また視神経外節間隙に小数のマクロファージの浸潤を認めたと網膜の肥厚や形状には変化は認められなかった。電顕では、対照群では変性したRPEはbasal infoldingに接してミトコ

ンドリアは存在するものの、他のorganelleは消失していた。また一部にはbasal infoldingが不鮮明な部位も認められた。組織損傷が軽度な部位ではRPEは球状化し一部で萎縮した核が胞体内の辺縁におし出され、大きな脂肪滴様物質が観察された。治療群では一部のRPE胞体内に空胞を認める以外、他に異常はみられなかった。

D. 考察

オルニチンは尿素回路に関連するアミノ酸の一種で、RPEに対する障害はKuwabaraらの報告³⁾以来、ラット、家兎、猿を用いて、その病理組織学的検討がなされてきた。本実験モデルは、ミユラー細胞やRPEにオルニチンの代謝酵素であるオルニチン・アミノ基転移酵素が局在するために、硝子体に注入されたオルニチンがRPEに選択的に大量に取り込まれ、これらの組織に障害が引き起こされて生じると考えられている^{4,6)}。有色家兎におけるオルニチン硝子体内注入による組織障害は、光顕レベルではRPEの扁平化と空胞形成、電顕ではRPEのmicrovilliの軽度短縮、不整なbasal infolding、ミトコンドリアの膨化、滑面小胞体の空洞化、さらに晩期では視細胞外節、内節の部分的消失が認められるとされており、本研究でも、対照眼ではこれらの報告と同様の組織障害がみられた。

本実験のRPE-CS注入眼は対照眼と比較して、RPEおよび網膜の組織障害の軽減がみられた。その理由として、1) RPE-CFがオルニチンのRPEへの取り込みを阻害する、2) RPE-CFがRPEの貪食作用を抑制する、3) RPE-CF中にオルニチンの代謝酵素を阻害または組織障害を軽減させる物質が存在する、などが考えられるが、その機序は今後の課題である。またRPE培養上澄み液には既知のサイトカインを含む様々な因子の他に、新たな物質が含まれている可能性もある。RPE培養

上澄み液はベーチェット病眼症における網脈絡組織障害に対しても新たな治療薬となる可能性があり、さらに研究を進める予定である。

E. 結論

RPE培養上澄み液は実験的オルニチン網膜症の網膜組織障害を軽減する作用を有する。RPE培養上澄み液はベーチェット病での網膜組織障害に対する治療薬となる可能性があり、その作用機序の検討が必要である。

F. 文献

- 1) Campochiaro PA: Growth factors in the retinal pigment epithelium and retina. The Retinal Pigment Epithelium. Eds Marmor MF, Wolfensberger TJ: Oxford University Press, New York, 459-477, 1998.
- 2) Wu GS, et al: A novel retinal pigment epithelial protein suppresses neutrophil superoxide generation. I. Characterization of the suppressive factor. *Exp Eye Res* 63: 713-725, 1996.

3) Kuwabara T, et al: Experimental model of gyrate atrophy in animals. *Ophthalmology* 88: 331-334, 1984.

4) 竹内正光、他：実験的オルニチン網膜症、第1報 注入早期の変化. *日眼会誌* 94: 1012-1023, 1990.

5) 森 繁広：網膜色素上皮障害の脈絡膜循環に与える影響、第1報 オルニチン投与による4週までの変化. *眼紀* 44: 1130-1139, 1993.

6) Kasahara M, et al: Immunohistochemical localization of ornithine aminotransferase in normal rat tissues by Fab'-horseradish peroxidase conjugates. *J Histochem Cytochem* 34: 1385-1388, 1986.

G. 研究発表

日眼会誌投稿中

網膜色素上皮細胞培養上澄み液(RPE-CS)の オルニチン網膜症に対する作用に関する研究

分担研究者	藤野雄次郎	東京厚生年金病院眼科
	沼賀二郎、蕪城俊克	東京大学医学部眼科
	上甲覚、川島秀俊	東京大学医学部眼科
	石井康雄	総合新川橋病院眼科
	清水一之、松元俊	東京逓信病院眼科

研究要旨 網膜色素上皮細胞培養上澄み液の実験的オルニチン網膜症に対する作用を病理組織学的に検討した。網膜色素上皮細胞培養上澄み液およびオルニチン網膜症の作成には有色家兎を用いた。0.5 M/lのL-ornithine hydrochlorideを硝子体中に注入し、同時に治療群には網膜色素上皮細胞培養上澄み液を、対照群には熱非活性化した網膜色素上皮細胞培養上澄み液を注入した。5日目に眼球摘出を行ない検討した。対照群は従来¹⁾の報告と同様に網膜色素上皮および網膜外層の組織障害が観察された。一方、治療群では極く軽度の網膜色素上皮の障害のみであった。網膜色素上皮細胞培養上澄み液にはオルニチンによる網膜組織障害を軽減させる作用があると考えられた。

A. 研究目的

網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium; RPE) 細胞は網膜の最外層に位置し、ブルッフ膜を介して脈絡膜毛細血管板に接しており、血液網膜関門の形成や視細胞の栄養、代謝に関与し、網脈絡膜の機能を正常に維持する上で重要な役割を担っている。主な役割としては視細胞外節の貪食、ビタミンA及び細胞内レチノイド蛋白の代謝、細胞外マトリックスの合成、イオン、電解質及び液体の輸送、メラニン合成、視細胞微小循環の維持などがある¹⁾。また近年、神経成長因子、塩基性線維芽細胞増殖因子、形質転換成長因子、血管内皮細胞増殖因子、血管新生因子、血管新生抑制因子、insulin-like growth factor binding protein-2などの様々なサイトカインを分泌することも明かにされた¹⁾。さらに過酸化脂質やスーパーオキシ

ドを介して抗炎症作用を有する網膜色素上皮保護蛋白も報告され注目されている²⁾。本実験ではRPEや脈絡膜毛細血管板を選択的に障害するオルニチンを用いたオルニチン網膜症モデル^{3)~5)}に対するRPE細胞培養上澄み液(RPE-CS)の作用を病理組織学的に検討した。

B. 研究方法

1. RPE細胞の培養方法

Wuらの方法で施行した²⁾。RPE培養液は10% fetal bovine serum 及び抗菌薬を添加したMEM溶液を用いた。有色家兎の眼球を摘出後、眼球を角膜輪部よりやや後方で開き、角膜、水晶体、硝子体を除去、さらに神経網膜を除去した後、RPEを分離した。培養開始後7日間前後のconfluentになったRPE細胞を用いた。

2. RPE細胞培養上澄み液(RPE-CS)の作成

RPE細胞 1.0×10^5 /mlにて4時間37°Cで

培養したHank's balanced salt solutionの上澄み液をRPE-CSとして用いた。注入するRPE-CSはタンパク量が8.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のものを使用した。

3. RPE障害モデルの作成

成熟有色家兔（体重1.5-2.0kg）8羽16眼を用いた。うち6羽はオルニチン注入群、また残りの2羽は対照群として用いた。0.5 M/lのl-ornithine hydrochloride生理食塩水溶解液30 μl を30G注射針を用いて毛様体扁平部より硝子体内に注入した。また同時に右眼には熱非活性化したRPE-CS（対照群）、左眼にはRPE-CS（治療群）をそれぞれ70 μl を注入した。

4. 組織学的検討

オルニチン注入5日目に眼球摘出を行ない、直ちに2.5%グルタルアルデヒド、0.2Mリン酸塩緩衝液中にて前固定後、2%四酸化オスミウム・リン酸緩衝液の等量混合液で90分間後固定した。エタノールで脱水、プロピレンオキシドで置換後、エポック8/12樹脂にて包埋した。ultraマイクロトームを用いて1 μm の厚切切片を作製後、トルイジンブルー染色し、光学顕微鏡にて観察した。超薄切片は酢酸ウラニル・クエン酸鉛で二重染色後、JEM1200型電子顕微鏡にて観察した。

C. 研究結果

光顕では対照群は治療群と比較し網膜の厚さは軽度に浮腫様に肥厚していた。視神経線維層に多数の空胞化、外顆粒層の配列の乱れ、視神経外節とRPE間が離開している部位ではマクロファージが多数浸潤し、RPEも浮腫様に肥厚していた。一方治療群では、内境界膜に接し多数のリンパ球やマクロファージ、また視神経外節間隙に小数のマクロファージの浸潤を認めたが網膜の肥厚や形状には変化は認められなかった。電顕では、対照群では変性したRPEはbasal infoldingに接してミトコ

ンドリアは存在するものの、他のorganellaは消失していた。また一部にはbasal infoldingが不鮮明な部位も認められた。組織損傷が軽度な部位ではRPEは球状化し一部で萎縮した核が胞体内の辺縁におし出され、大きな脂肪滴様物質が観察された。治療群では一部のRPE胞体内に空胞を認める以外、他に異常はみられなかった。

D. 考察

オルニチンは尿素回路に関連するアミノ酸の一種で、RPEに対する障害はKuwabaraらの報告³⁾以来、ラット、家兔、猿を用いて、その病理組織学的検討がなされてきた。本実験モデルは、ミュラー細胞やRPEにオルニチンの代謝酵素であるオルニチン・アミノ基転移酵素が局在するために、硝子体に注入されたオルニチンがRPEに選択的に大量に取り込まれ、これらの組織に障害が引き起こされて生じると考えられている^{4,6)}。有色家兔におけるオルニチン硝子体内注入による組織障害は、光顕レベルではRPEの扁平化と空胞形成、電顕ではRPEのmicrovilliの軽度短縮、不整なbasal infolding、ミトコンドリアの膨化、滑面小胞体の空洞化、さらに晩期では視細胞外節、内節の部分的消失が認められるとされており、本研究でも、対照眼ではこれらの報告と同様の組織障害がみられた。

本実験のRPE-CS注入眼は対照眼と比較して、RPEおよび網膜の組織障害の軽減がみられた。その理由として、1) RPE-CFがオルニチンのRPEへの取り込みを阻害する、2) RPE-CFがRPEの貪食作用を抑制する、3) RPE-CF中にオルニチンの代謝酵素を阻害または組織障害を軽減させる物質が存在する、などが考えられるが、その機序は今後の課題である。またRPE培養上澄み液には既知のサイトカインを含む様々な因子の他に、新たな物質が含まれている可能性もある。RPE培養

上澄み液はベーチェット病眼症における網脈絡組織障害に対しても新たな治療薬となる可能性があり、さらに研究を進める予定である。

E. 結論

RPE培養上澄み液は実験的オルニチン網膜症の網膜組織障害を軽減する作用を有する。RPE培養上澄み液はベーチェット病での網膜組織障害に対する治療薬となる可能性があり、その作用機序の検討が必要である。

F. 文献

- 1) Campochiaro PA: Growth factors in the retinal pigment epithelium and retina. *The Retinal Pigment Epithelium*. Eds Marmor MF, Wolfensberger TJ : Oxford University Press, New York, 459-477, 1998.
- 2) Wu GS, et al: A novel retinal pigment epithelial protein suppresses neutrophil superoxide generation. I. Characterization of the suppressive factor. *Exp Eye Res* 63: 713-725, 1996.

3) Kuwabara T, et al: Experimental model of gyrate atrophy in animals. *Ophthalmology* 88: 331-334, 1984.

4) 竹内正光、他：実験的オルニチン網膜症、第1報 注入早期の変化. *日眼会誌* 94: 1012-1023, 1990.

5) 森 繁広：網膜色素上皮障害の脈絡膜循環に与える影響、第1報 オルニチン投与による4週までの変化. *眼紀* 44: 1130-1139, 1993.

6) Kasahara M, et al: Immunohistochemical localization of ornithine aminotransferase in normal rat tissues by Fab'-horseradish peroxidase conjugates. *J Histochem Cytochem* 34: 1385-1388, 1986.

G. 研究発表

日眼会誌投稿中

研究要旨

我々は既にベーチェット病の病態にサイトカイン異常産生が関与していることを示し、中でも $\text{TNF}\alpha$ の産生亢進が病態の基礎にあることを示してきた。このため我々はサイトカイン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を模索している。ところで長年予定していたセントコア社のキメラ抗体である抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体 (Infliximab) による臨床研究はやっと昨年班長を中心として重症ブドウ膜炎を認めるベーチェット病患者に対して行われ、有効性が明らかにされつつある。しかしながら Infliximab はキメラ型抗体であるため使用制限がある。我々は次にヒト型化抗体、ヒト抗体を予定していたが、更に先の治療として小分子によるサイトカイン阻害剤の開発を予定していた。本年はファージディスプレイ法による IL-6 阻害分子の開発を目的とし、続いて $\text{TNF}\alpha$ 阻害分子を開発する方向を目指した。

無差別配列した 7 アミノ酸より成るペプチドを表現した M13 ファージライブラリーを用いてリコンビナント IL-6 をコートしたプレートにまき、結合したファージを 0.1M グリシン塩酸バッファーで溶出した。ファージ溶液に ER2537 宿主細胞を加えた。同法を再度繰り返して IL-6 結合ファージクローンを得た。IL-6 特異結合クローンを選択するため、IL-6、ヒト Ig、ヒトアルブミン、BSA、又はゼラチンをコートしたディッシュを用いて、得られた 18 クローンを反応させ、ビオチン化抗 M13 抗体にて反応させた。その結果 IL-6 に特異的に結合するクローンを 3~5 種得た。今回、3~5 種のクローンを得たが、数を増やすため 2~3 回同法を行い、その後 IL-6 依存増殖する細胞の増殖阻害を行う。今後また別の方法として IL-6 レセプターに結合するファージを得て gp130 との結合を阻害するクローンを得ることも考えている。更に $\text{TNF}\alpha$ 阻害分子を得るためには抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体を用いる予定である。

A. 研究目的

ベーチェット病はその発症原因に特異組織適合性抗原の HLA-B51 あるいは、MICA、MICB、更には NOB と特異外来抗原が関与すると考えられている。しかし、活動期に見られるぶどう膜炎やアフタ性口内炎、外陰部潰瘍、結節性紅斑などの特徴的な多彩な症状に加え、発熱や倦怠感などの非特異的な慢性炎症症状が認められ、その病態には $\text{TNF}\alpha$ 、IL-6 又は IL-8 等の種々の炎症性サイトカインが関与していると考えられる。 $\text{TNF}\alpha$ は活動性の有無に関わらず血清中ではつねに高値を示し、眼症状、陰部潰瘍が見られるときには更に上昇が観察された。更に *in vitro* において患者末梢血単核球からは $\text{TNF}\alpha$ の産生亢進が観察され、大野らによる EAU 動物モデルにおいても $\text{TNF}\alpha$ の産生増加が報告されている。このことからベーチェット病における多彩な症状の出現には複数のサイトカインの産生異常が関わっていると思われるが、その中で $\text{TNF}\alpha$ は主要なサイトカインであると考えられ、 $\text{TNF}\alpha$ 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。そこで平成 11 年度秋より、セント

コア社の開発したキメラ型抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体 (Infliximab) による重症ブドウ膜炎を認めるベーチェット病患者への治療研究を計画し、先ず大野先生を中心とする臨床研究グループで開始し、有効性が明らかになりつつある。

前述のごとく抗サイトカイン療法を抗体を用いて行うことの有用性を示したが、現在使用可能な抗 $\text{TNF}\alpha$ 抗体 (Infliximab) はヒトとマウスのキメラ型抗体である。Infliximab 反復投与により、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。事実 Infliximab による慢性関節リウマチ (RA) 治療においては、有効性が認められるにも関わらず、抗 Infliximab 抗体の出現が約半数に認められ頻回投与が出来ない。このため我々はヒト型化抗 IL-6 レセプター抗体 (rhPM-1) を作成した。RhPM-1 は Fab の CDR 部分のみをマウス蛋白としているため抗原性が低く、事実 RA 等わずか 20 例中 1 例のみにイデオタイプ抗体を認めた。他の患者は頻回投与が可能で極めて有効であった。しかしヒト型化でも問題があり理想的にはヒト抗体が望まれた。このためゼノマウスを用

いたサイトカインに対するモノクローナルヒト抗体を作成した。しかしモノクローナル抗体作成には、たとえヒト抗体でも培養に哺乳類血清を必要とすることがあり、いわゆるプリオンの問題が残る。また高額でもある。実際の治療には低価格が望まれる。このため小分子によるサイトカイン阻害剤の開発を目的としてファージディスプレイ法による IL-6 阻害剤の作成を試みた。

B. 研究方法

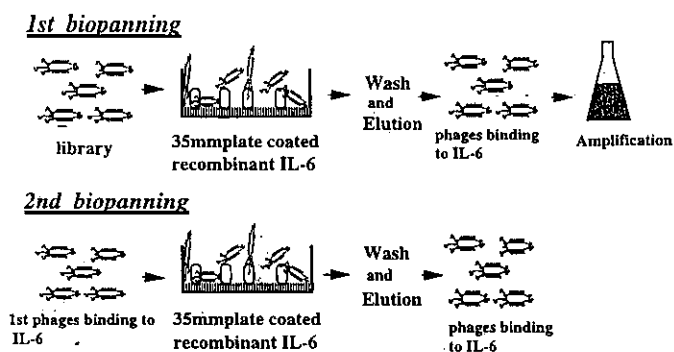
1) Fuse Phage 使用の場合

ファージの無差別発現ライブラリーは FUSE5 ベクターの g3p 分子の N 末から 5 つのアミノ酸のところから 15 アミノ酸に匹敵するモチーフを導入して作成した。ポリエチレンディシユに recombinant IL-6 (rIL-6)、抗 gp130 抗体、抗 IL-6 抗体をコートし 1%BSA でブロックする。これにファージライブラリーを上乗せし、非結合ファージを除いた後結合ファージを 0.1M glycine-HCl バッファーで溶出した。溶出後に宿主細胞 K91Kam 細胞を加えファージを増殖させた。これを二度繰り返した。

2) M13 phage 使用の場合

M13 ファージの pIII の N 末に無差別配列した 7 アミノ酸よりなるペプチドを表現した M13 ファージライブラリーを用いて rIL-6 をコートした 35mm のプラスチックプレートにまき、非結合ファージを洗い流した後結合したファージを 0.1M glycine-HCl バッファー (pH9.1) で溶出した。溶出液をただちにトリス-HCl バッファーで中和した後 ER2537 宿主細胞に感染させファージを増殖させた。上記方法を 2 度繰り返し IL-6 結合ファージクローンを得た。(図 1)

図 1 Biopanning



3) IL-6 特異結合クローンの選択

マイクロタイター・プレートに抗体、又は rIL-6 を結合させ 5%ゼラチンでブロックした。ファージクローンを加え非結合ファージを洗い出した後ビオチン化抗 M-13mAb を反応させstreptavidin結合 Alk-ph を用いて発色させ 405nm の吸光で検出した。

4) IL-6 依存増殖細胞を用いた増殖阻害

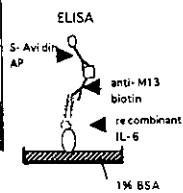
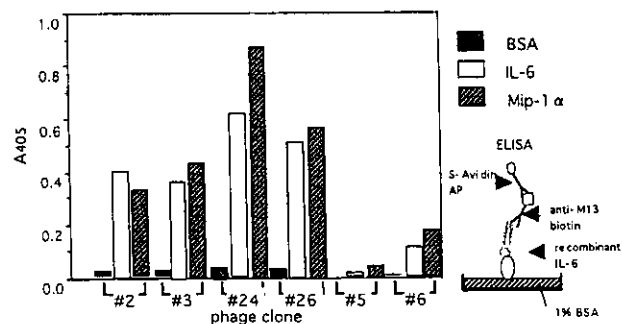
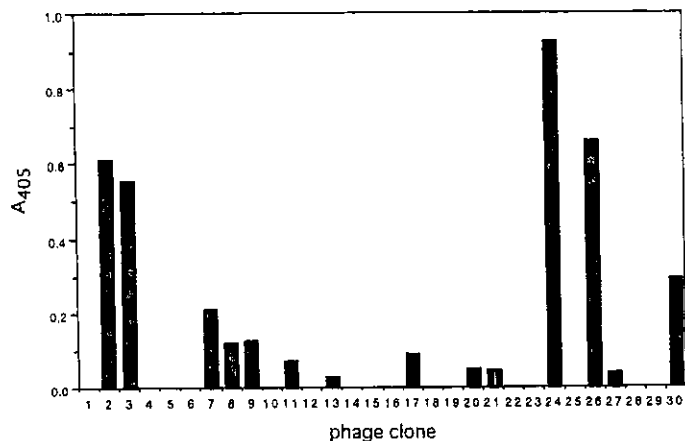
得られたファージ液 (50μl) を IL-6 依存増殖細胞 MH60 に加え、その後 IL-6 を加えて 48 時間後の増殖を MTT アッセイを用いて検討した。

C. 研究結果

1. Fuse phage を用いて、rIL-6 に結合するファージクローンの選択

図 2 上図に示すようにファージクローンの結合度の差を認めた。しかし、図 2 下図のように IL-6 のみならず MIP-1α にも結合し特異的なクローンを得ることができなかった。

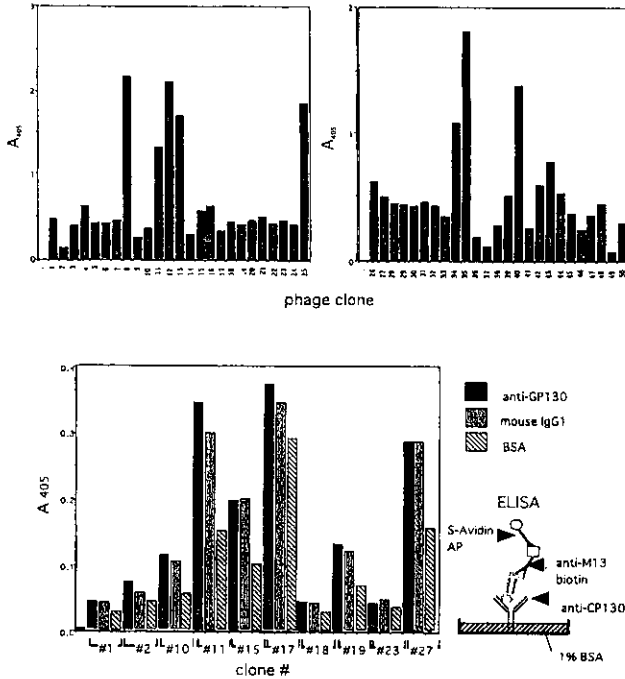
図 2 selected by recombinant IL-6



2. Fuse phage を用いて anti-gp130 に結合するファージクローンの選択

図3上図に示すようにファージクローンの結合度差をクローン毎に認めた。しかし図3下図のように anti-gp130 のみならず mouse IgG1 にも結合し、特異クローンを得ることができなかった。

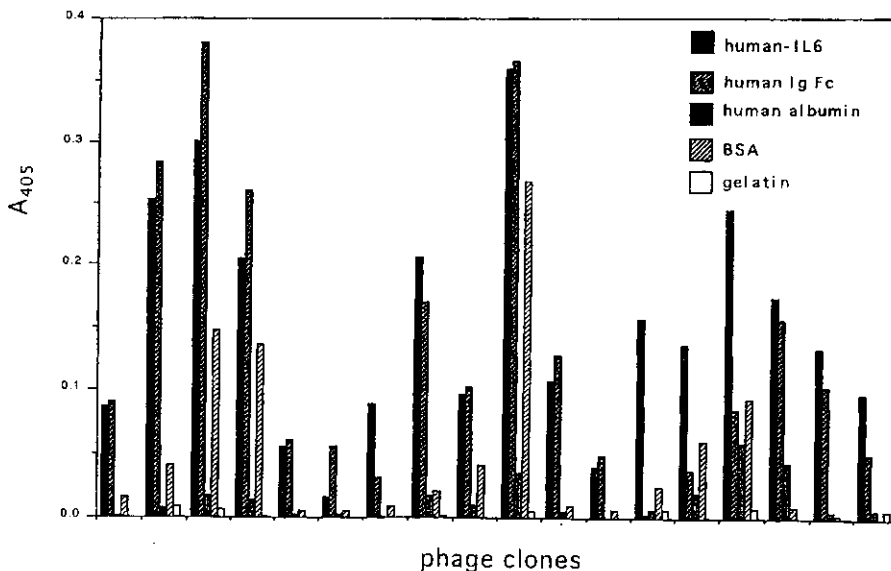
図3 Screening of phage clones from FUSE library selected by anti-gp130 mAb



3. M-13 phage を用いて rIL-6 に結合するファージクローンの選択

図4に示すようにヒト IgFc あるいはアルブミンに結合せず rIL-6 のみに結合するファージクローンを 3~5 種得ることができた。

図4 Screening of phage clones from M13 phage library selected by recombinant IL-6



D. 考察

今回 rIL-6 に特異的に結合する 3~5 種のクローンを得たが、これらのクローンが機能的に阻害効果を示さなければならぬので、次に IL-6 依存的に増殖を示す MH60 細胞を用いてこのクローンによる増殖阻害を行う。実際に特異的に増殖阻害をしめすクローンを得るため同法を 2-3 回くり返し行う。

今後 Anti-gp130 抗体を用いた場合は現在のところ得られていないし、また IL-6R 結合するファージによる gp130 との結合を阻害するクローンも得ていないので、anti-gp130 抗体及び IL-6R をターゲットとしたファージパンニングを行う。なお TNF- α 阻害分子を得るためには抗 TNF- α 抗体を用いて行う予定である。

E. 結論

低分子によるサイトカイン阻害剤を開発するため、今回は IL-6 機能を阻害する低分子を得るため M13 ファージライブラリーを用いて rIL-6 に結合するファージクローンを 3~5 種得た。今後 MH60 を用いて IL-6 増殖阻害の有無を検索する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sasai M, Y. Saeki, S. Ohshima, K. Nishioka, T. Mima, T. Tanaka, Y. Katada, K. Yoshizaki, M. Suemura, Kishimoto T. Delayed onset and reduced severity of Collagen-Induced Arthritis in Interleukin 6 deficient mice. *Arthritis Rheum.* 1999;42(8):1635-1643.
2. Nishimoto N, A. Ito, M. Ono, H. Tagoh, T. Matsumoto, T. Tomita, T. Ochi, Yoshizaki K. IL-6 inhibits the proliferation of fibroblastic synovial cells from rheumatoid arthritis patients in the presence of soluble IL-6 receptor. *International Immunology* 2000;12(2):187-193.
3. Nishimoto N, M. Sasai, Y. Shima, M. Nakagawa, T. Matsumoto, T. Shirai, T. Kishimoto, Yoshizaki K. Improvement in Castleman's disease by humanized anti-interleukin-6 receptor antibody therapy. *Blood* 2000;95(1):56-61.
4. Yamamoto M, K. Yoshizaki, T. Kishimoto, Ito H. Anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody prevents T-helper 1 cell-mediated murine colitis. *J. Immunol.* 2000 (in press).
5. Mori Y, N. Nishimoto, M. Ohno, R. Inagi, P. Dhepakson, K. Amou, T. Hirano, K. Yoshizaki, Yamanishi K. Human Herpesvirus 8-encoded Interleukin-6 homologue (viral IL-6) induces endogenous human IL-6 secretion. *J. Med. Virol.* 2000(in press).
6. Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T. Anticytokine therapy in autoimmune diseases. *Internal Medicine* 1999;38(2):178-182.
7. 松本智成, 西本憲弘, 吉崎和幸. 慢性関節リウマチにおける抗サイトカイン療法. *治療学* 1999;33(8):87-89.
8. 西本憲弘, 吉崎和幸. ヒトヘルペスウイルス8感染とBリンパ球増殖性疾患. *臨床遺伝学* '99 1999;54:283-287.
9. 西本憲弘, 吉崎和幸. 慢性関節リウマチ-抗サイトカイン療法をめぐって. *現代医療* 1999;31(7):192-196.
10. 西本憲弘, 吉崎和幸. IL-6 阻害による多発性骨髄腫治療. *細胞* 1999;31(9):20-23.
11. 西本憲弘, 吉崎和幸. Castleman 病と MCD-IL-6 シグナル阻害による治療-. *医学のあゆみ* 1999;188(10):942-948.
12. 西本憲弘, 松本智成, 橋本 淳, 松野博明, 富田哲也, 越智隆弘, 吉崎和幸. インターロイキン6のシグナル伝達阻害による骨粗鬆症の治療法の開発. *Osteoporosis Japan* 1999;7(4):34-37.
13. 西本憲弘, 松本智成, 吉崎和幸. 抗サイトカイン療法. *カレントセラピー* 1999;17(1):150-154.
14. 西本憲弘, 吉崎和幸. 慢性関節リウマチの先進的治療. *治療トピクス* 100 1999;81(増刊号):524-528.
15. 松本智成, 西本憲弘, 吉崎和幸. 慢性関節リウマチにおける抗 IL-6 レセプター療法. *炎症と免疫* 2000;8(2):100-103.
16. 中原英子, 西本憲弘, 松本智成, 吉崎和幸. 感染とIL-6. *臨床と微生物* 2000(in press);27(1).
17. 西本憲弘, 吉崎和幸. ウイルス感染とサイトカイン. 東京: 医科学図書出版, 2000(in press). 「新臨床医のための分子医学シリーズ」サイトカインと疾患

2. 学会発表

1. K. Yoshizaki, N. Nishimoto, T. Matsumoto, and T. Kishimoto. RA therapy by the blocking of IL-6 signaling with humanized anti IL-6 receptor antibody. Fourth International Synovitis Workshop. USA, Dallas. 1999年5月.
2. N. Nishimoto, M. Sasai, Y. Shima, K. Yoshizaki, and T. Kishimoto. Improvement Rheumatoid Arthritis by humanized anti IL-6 receptor antibody. Fifth International Symposium on the Immunotherapy of the Rheumatic Disease. Cyprus. 1999年5月.
3. K. Yoshizaki, N. Nishimoto, T. Matsumoto. Chronic inflammation in RA and RA therapy by blocking cytokine function. 第27回日本リウマチ学会総会. 北海道札幌市. 1999年6月.
4. 吉崎和幸, 西本憲弘, 松本智成. IL-6 シグナル阻害による慢性関節リウマチの治療. 第27回日本臨床免疫学会総会. 日本, 栃木. 1999年10月.
5. 吉崎和幸. 抗 IL-6 受容体抗体の作用機序と臨床効果. 厚生省リウマチ調査研究公開シンポジウム「リウマチ研究と治療戦略: 21世紀に向けて」. リウマチ合同研究班. 東京. 2000年1月.
6. 吉崎和幸, 松本智成, 橋本 淳, 松野博明, 富田哲也, 越智隆弘, 西本憲弘. ヒト型化抗インターロイキン6抗体によるインターロイキン6のシグナル阻

害による骨粗鬆症の発症予防と治療法の開発. 日本
総合健診医学会大28回大会. 医療法人 藤和会
藤間病院. 埼玉. 2000年1月.

7. 合屋将、木田博、森下裕、新井徹、森雅秀、松岡洋
人、林清二、吉崎和幸. IL-6/IL-6 receptor double
transgenic mouse の肺病変の検討 日本呼吸器学
会総会. 広島. 2000年3月.

厚生科学研究費補助金（特定疾患研究事業）
分担研究報告書

ベーチェット病の治療と視力経過

主任研究者 大野重昭
八幡信代、中村聡、鳥山聖子、石原麻美、高野昌代、
杉田美由紀
横浜市立大学医学部眼科

研究要旨 ベーチェット病 35 例 70 眼の眼症状発症後の視力経過と治療、特にシクロスポリン治療について検討した。平均年齢 34 歳、平均観察期間は 4.8 (2-8) 年であった。発症時は視力 0.7 以上が 70%であったが、8 年後は 17%に減少し、0.1 未満が 83%であった。眼発作回数は、年に 3 回以上のものが発症時 29%で、8 年後も 16%であった。シクロスポリン内服例は 54%で、導入前後の眼発作回数は有意に減少していた。しかし、治療開始 2 年後も年に 3 回以上の発作が 24%にみられ、これらの視力は治療開始 2 年で全例 0.3 以下であった。

A.研究目的

ベーチェット病は近年シクロスポリンの登場により、眼発作の軽減がみられるようになったが、いまだに日常生活に支障をきたすような視力低下例や、眼発作を繰り返す症例がみられる。今回我々はベーチェット病の眼症状発症後の視力経過と発作回数、シクロスポリン治療の効果について検討を行った。

B.研究方法

1991 年から 97 年に横浜市大眼科ぶどう膜炎外来を受診したベーチェット病患者 168 例のうち眼症状発症 1 年以内の 35 例 70 眼について検討した。男性 20 例 40 眼平均年齢 30 歳、女性 15 例 30 眼平均年齢 40 歳、完全型は

13 例、不全型は 22 例であった。平均観察期間は 4.8 (2~8)年であった。これらについて眼症状発症後の視力、眼発作回数、視力低下の原因、治療内容、さらにシクロスポリン治療を始めた症例については、その治療効果と副作用について検討を行った。統計学的処理は Fisher の χ^2 検定で行った。

C.研究結果

平均視力の経過を図 1 に示した。発症時の平均視力は 0.6 であったが、4 年後は 0.3、8 年後は 0.1 に低下していた。視力の内訳は図 2 に示すように発症時には 0.7 以上のものが 70%であったが徐々に減少し、8 年後は 17%であった。4 年後は 0.3 未満が半数を占め、8 年後は 0.1 未満が 83%であっ

た。

眼発作回数は年に3回以上のものが眼症状発症時、29%みられ、年々徐々に減少していたが、8年後も16%にみられた。(図3)

0.3未満の視力を示した38眼の視力低下の主な原因は併発白内障が45%、硝子体混濁34%、視神経萎縮26%、黄斑変性23%、続発緑内障10%、網膜剥離8%であった。

観察期間中の主な治療はコルヒチン内服のみの症例が7例20%、シクロスポリン内服例は19例54%で、そのうちコルヒチンとの併用例が5例14%であった。一方点眼のみや、無治療の症例が7例20%あった。シクロスポリン治療は眼発作の多発する症例で眼症状発症後平均1.6年で開始され、導入量は平均4(2.5~5)mg/kg/dayであった。平均治療期間は3.5±1.7年であった。

シクロスポリン導入前後の眼発作回数は導入前、3ヶ月間に1回以上の発作が60%にみられたのに対し、導入後は30%と有意に減少していた。しかし導入6ヶ月後も3ヶ月に3回以上の発作が出現する例が7%みられた。治療開始2年後も年に3回以上の発作が9眼20%にみられた。

治療後も年に3回以上の眼発作がみられた9眼の視力経過を図4に示した。治療開始から2年で全例0.3以下に低下し、8割が0.1以下であった。

シクロスポリン治療の副作用は、軽度肝腎機能障害が2例ずつ、消化器症状1例、中枢神経症状が1例にみられ

た。中枢神経症状は、シクロスポリン投与中に出現したものが1例5%であった。なおシクロスポリン非投与例では2例12.5%であった。

D. 考察

今回の検討より、ベーチェット病の視力予後は未だに良いとは言えないこと、眼発作はシクロスポリンなどの治療で抑制できる症例があるものの、治療にもかかわらず眼発作を繰り返し、視力低下の著しい症例もみられ、より効果的な治療法の開発が必要と考えられた。

E. 結論

ベーチェット病の全症例の平均視力が0.3になったのは眼症状発症4年後であった。シクロスポリン治療後も年に3回以上眼発作がみられる治療抵抗例が24%みられた。また治療抵抗例の視力は80%が治療開始2年後に0.1未満になっていた。

F. 研究発表

2. 学会発表

八幡信代、中村聡、鳥山聖子、石原麻美、高野昌代、杉田美由紀、大野重昭：ベーチェット病の治療と視力経過。第53回臨眼、1999.10、東京。

图1 視力経過

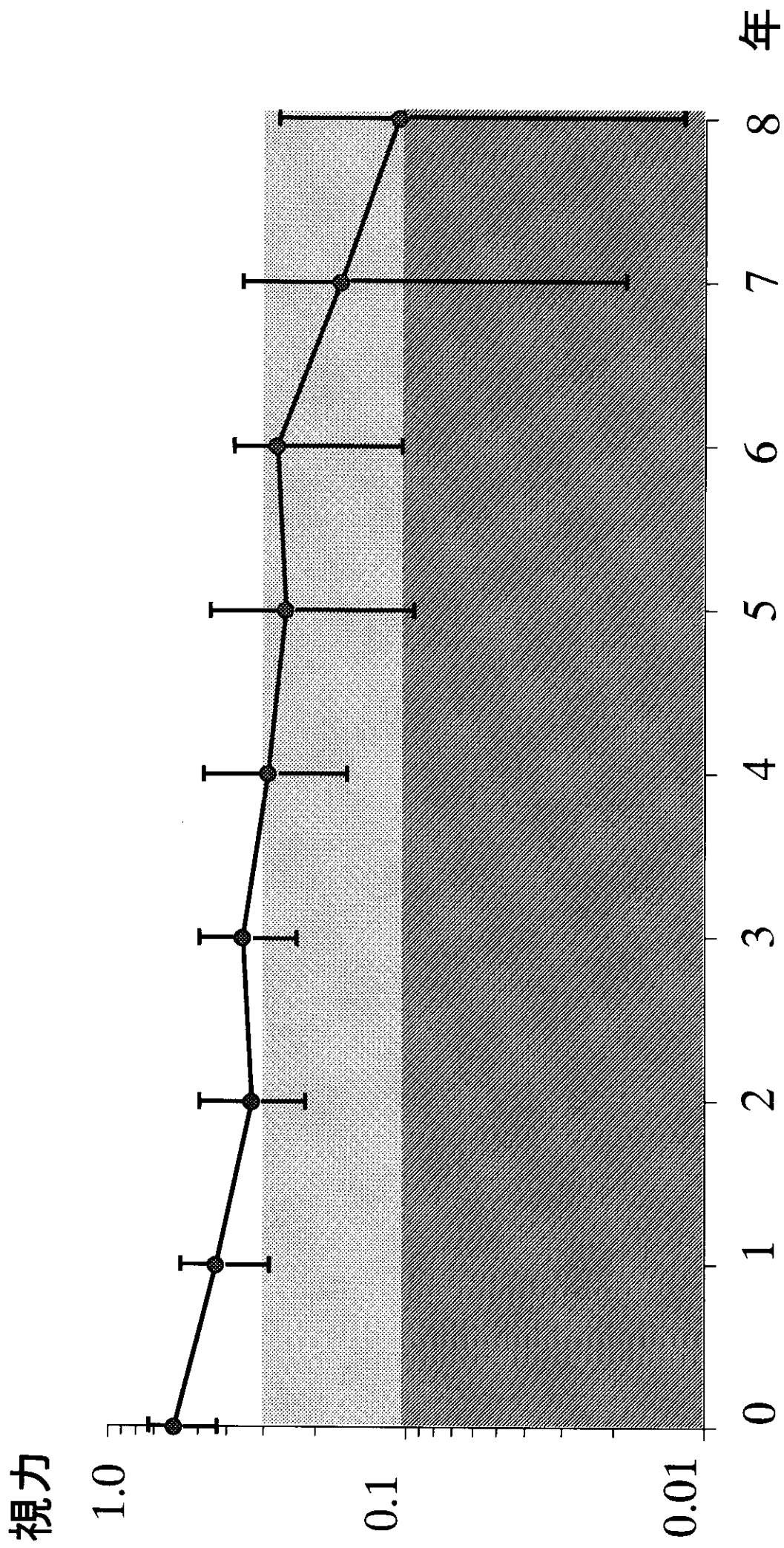


図2 視力の内訳

