

それを *in vitro* で hemin 刺激すると、単核細胞に強く HO-1 の発現が誘導されるに対し、多核白血球における発現は検出されなかった (図 2)。さらに、単核細胞を分画して検討したところ、単球、リンパ球に分画して検討したところ、HO-1 の発現は CD14 陽性細胞に選択的に検出された (図 2)。また、単核細胞を hemin 存在下で培養して、抗 HO-1 抗体を用いた細胞免疫染色法により解析すると、形態学的に単球と思われる細胞のみが陽性所見を呈した。

②HO-1 発現誘導と炎症関連蛋白の発現：マウス脾細胞における COX-1 の発現は構成的であり、活性化に依存しないが、COX-2 の発現は炎症刺激によってはじめて誘導される。iNOS もその挙動はほぼ同じであり、マウス脾細胞を *in vitro* で 12 時間刺激することにより、COX-2、iNOS の発現が誘導される (図 3)。しかし、hemin であらかじめ 12 時間処理し、HO-1 の発現が十分誘導された状態では、LPS 刺激後の COX-2、iNOS の発現は著明に抑制された。

③HO-1 発現誘導とサイトカイン産生：次に LPS 刺激脾細胞による TNF- α 、IL-10 産生に対する hemin 処理の影響を ELISA 法により検討したところ、hemin により TNF- α 産生は抑制されたのに対し、IL-10 産生はむしろ増強された (図 4)。

④hemin の airpocuh 炎症モデルに対する効果：hemin をマウス背部皮下に作成した airpouch に投与すると、48

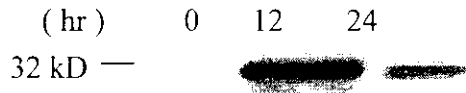
時間後には HO-1 の発現がウェスタン法および免疫染色法で確認された。48 時間の hemin 前処理後、LPS を投与して炎症を惹起し、7 日目に airpouch 壁の病理組織学的解析を行ったところ、hemin 前処理により、好中球をはじめとした細胞浸潤が著明に抑制され、壊死病変も抑制されていた。

D. 考察

HO-1 の誘導剤である hemin は *in vitro* のみならず、マウス生体への投与でも HO-1 の発現を強く誘導した。ヒト末梢血白血球でもその効果は認められ、CD14 陽性単球が HO-1 をもっと強く発現した。これまでの報告では多核白血球にも HO-1 の発現が見られるとする報告もあるが、今回の hemin を inducer とした検討では、我々のアッセイ感度を越える発現量は得られなかった。

hemin により HO-1 の発現を十分に誘導することにより、炎症性メディエーター関連酵素、COX-2、iNOS の発現、TNF- α の産生は抑制される一方、抗炎症サイトカインである IL-10 の産生は増強された。また、airpouch モデルでは病理学的な改善も得られた。以上の所見は間接的ではあるが、誘導された HO-1 が複数の機序を介して炎症制御に関与することを示している。今後、その機序の詳細を解明するとともに、ベーチェット病に対する新しい治療戦略としての可能性を検討していく予定である。

(A) *in vitro* 100 μ M Hemin



(B) *in vivo* 2 mM Hemin ip

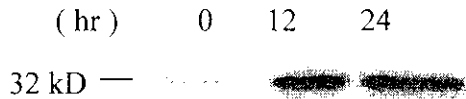
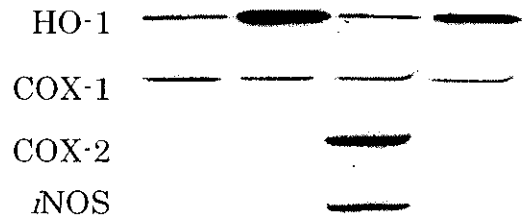
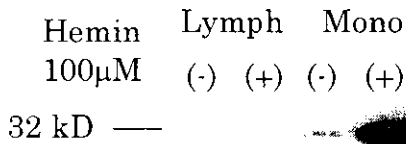
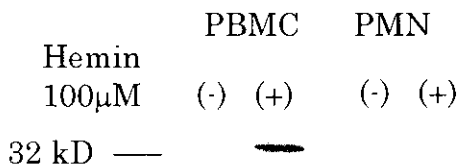


図1 マウス脾細胞におけるheminによるHO-1蛋白発現の誘導



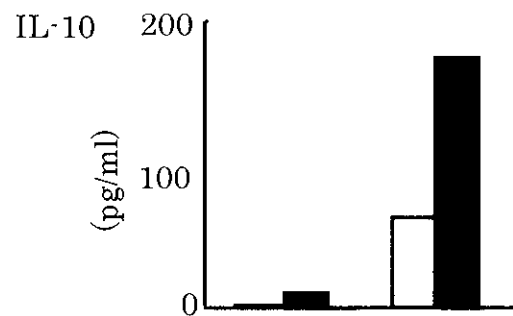
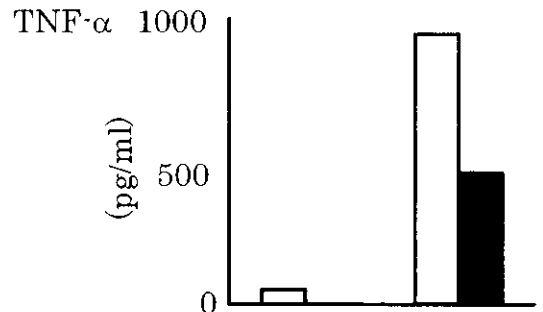
LPS 1 μ g/ml	(-)	(-)	(+)	(+)
Hemin 100 μ M	(-)	(+)	(-)	(+)

図3 LPS刺激マウス脾細胞に誘導されるCOX-2、iNOS発現に対するheminの効果



Lymph; CD3+ CD20+
Mono; CD14+

図2 ヒト末梢血白血球におけるheminによるHO-1蛋白発現の誘導



LPS 1 μ g/ml	(-)	(-)	(+)	(+)
Hemin 100 μ M	(-)	(+)	(-)	(+)

図4 LPS刺激マウス脾細胞によるTNF- α 、IL-10産生に対するheminの効果

アスタキサンチンの抗炎症作用に関する研究

分担研究者 大野重昭（北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野 教授）

研究協力者 大神一浩¹，白取謙治¹，Iliyana Ilieva¹，小竹 聡¹，
西田朋美²，水木信久²

（北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野¹，横浜市大眼科学教室²）

研究要旨

カロチノイド属に含まれるアスタキサンチン(AST)はサケ、エビ、カニなどの赤色色素として天然に存在し、抗酸化作用を有することが知られている。今回、ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎モデルに対する AST が及ぼす影響を検討した。その結果、前房水中のタンパク濃度は対照群と比較して、10mg/kg AST 群、100mg/kg AST 群でそれぞれ著明に低下した。次に、前房水中炎症細胞数への影響をみたところ、対照群と比較して、100mg/kg AST 群のみで有意に減少した。10mg/kg AST 群での細胞数は減少傾向がみられたが、有意差はなかった。100mg/kg AST 群の前房水中のタンパク濃度および細胞数への影響は 10mg/kg プレドニゾン群とほぼ同程度であった。今回の実験の AST 投与濃度範囲において動物に異常はみられなかった。以上のことから、ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎において AST は濃度相関的に抑制作用を示し、特に 100mg/kg AST の抑制作用は 10mg/kg プレドニゾンとほぼ同程度であった。今回の結果から、AST は眼炎症に対する新しい消炎治療薬としての可能性が示唆された。

A. 研究目的

アスタキサンチン(AST)はカロチノイドの一種であるキサントフィル類に属し、サケ、イクラ、エビおよびタイなどの体表面の赤色を呈する色素に含まれている。近年、AST の生理作用として抗酸化作用¹⁾、抗ガン作用²⁾を有することが報告されている。われわれは、AST の抗酸化作用に着目し、ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎モデルを用いて、AST の抗炎症作用を検討したので報告する。

ドトキシン誘発ぶどう膜炎モデルを作製した。

AST は 1, 10 または 100mg/kg を LPS 投与前 30 分、投与直後、投与 30 分後に尾静脈内に投与した。対照群として溶媒である 60% ポリエチレングリコール投与群、治療効果比較のため 10mg/kg プレドニゾン投与群を設けた。1 群を 6 匹とした。LPS 投与 24 時間後に前房水を採取し、前房水中のタンパク濃度、前房水中炎症細胞数、PGE2, TNF- α および NO 濃度を測定した。

B. 研究方法

6 週齢雄性レイスラットの両後肢足趾皮下に LPS を 50ug(計 100ug)投与し、ラットエン

C. 研究結果

1. 前房水中のタンパク濃度への影響；

対照群と比較して、AST 投与群では濃度依

存的に前房水中のタンパク濃度は低下し、特に AST100mg/kg 群のタンパク濃度の低下はプレドニゾン 10mg/kg 投与群とほぼ同程度であった。

2. 前房水中の炎症細胞数への影響；

細胞数は前房水をチュルク染色液で染色した後、血球計算盤を用いて細胞数を計測した。その結果、タンパク濃度と同様に、AST 投与群では濃度依存的に低下し、特に AST 100mg/kg 群での低下の程度とプレドニゾン 10mg/kg 投与群とはほぼ同程度であった。

3. 前房水中の PGE₂, TNF- α および IL-6 濃度への影響；

LPS で上昇した PGE₂ を AST 投与は有意に抑制した。また、前房水中のタンパク濃度および細胞数の結果と同様に AST100mg/kg での抑制の程度はプレドニゾン 10mg/kg とほぼ同等の効果を示した。前房水中の TNF- α 濃度および IL-6 濃度も AST 投与により、有意な抑制がみられた。

4. 前房水中での NO 濃度への影響；

LPS 添加なしで溶媒である 60%ポリエチレングリコールのみを投与したラット前房水中の NO 濃度は約 1 μ M であった。これに対し、AST 投与群では濃度依存的に低下し、特に AST100mg/kg 群での低下の程度はプレドニゾン 10mg/kg 投与群とほぼ同程度であった。

D. 考察および結論

以上の結果から AST は抗炎症作用を有することが示唆された。特に AST100mg/kg はプレドニゾン 10mg/kg とほぼ同程度の強い抗炎症作用を示した。今後、他の眼疾患動物病

態モデルでの薬効検討を行うと同時に、安全性の確認のため、毒性試験などを計画しており、臨床応用可能か検討する必要があると思われる。

E. 参考文献

- 1) Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, and Koller E. Autoxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res.* 1987;28:495-509.
- 2) Tanaka T, Makita H, Ohnishi M, Mori H, Satoh K, and Hara A. Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. *Cancer Res.* 1995;55:4059-4064.

研究発表

1. 論文発表

Ohgami K, Shiratori K, Kotake S, Nishida T, Mizuki N, Yazawa K, Ohno S ; The effects of astaxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. : *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2003 (in press)

2. 学会発表

- a. 大神一浩, 小竹聡, 矢澤一良, 南場研一, 水木信久, 大野重昭: ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎モデルに対するアスタキサンチンの抑制効果; 第106回日本眼科学会総会, 4. 2002
- b. 大神一浩, 小竹聡, 有賀俊英, 大野重昭, 矢澤一良, 水木信久: マウスマクロファージ RAW264. 7 細胞におけるアスタキサンチンの NO 産生抑制効果 ; 第36回日本眼炎症学会, 7. 2002

ベーチェット病患者における抗 TNF- α 抗体療法の末梢血単核球によるサイトカイン産生動態への影響

分担研究者 石ヶ坪良明 横浜市立大学医学部内科学第一講座
共同研究者 三角 緑 同上
岳野光洋 同上
水木信久 同眼科
大野重昭 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野

研究要旨 これまでの解析から我々は、ベーチェット病患者では疾患活動期に TNF- α 産生細胞および Th1 型サイトカイン産生細胞が増加していることを報告してきた。今回、長期抗 TNF- α 抗体療法を受けた眼発作を繰り返す活動性ベーチェット病患者 3 名において、抗 TNF- α 抗体療法の末梢血サイトカイン産生細胞・リンパ球上の IL-12 受容体発現への影響を解析することにより、免疫薬理学的作用機序を解析した。その結果、抗 TNF- α 抗体投与後、TNF- α 産生細胞は減少し IFN- γ 産生細胞と IL-12 受容体発現は増加する傾向を認められた。IL-12 受容体発現は治療期間中を通じて亢進したレベルを保ち、長期治療終了後に減少して治療前のレベルに戻った。治療中および終了後、TNF- α 産生細胞は症状寛解期には低いレベルを保っていたが、症状増悪時に一致して再上昇していた。以上の結果より、ベーチェット病の炎症において TNF- α が中心的役割を果たしていること、また抗 TNF- α 抗体療法は TNF- α を抑制する一方、Th1 型細胞をむしろ活性化することが示唆された。

A. 研究目的

ベーチェット病患者の末梢血単核球 (PBMC) のサイトカイン産生バランスは Th1 に傾いていると報告されている¹⁻³⁾。これまで我々は ELISPOT 法を用いてベーチェット病患者では TNF- α 産生細胞および Th1 サイトカイン産生細胞が増加していることを報告してきた。また、活動性眼症状を持つベーチェット病患者 4 名に短期抗 TNF- α 抗体療法を、そのうちの 3 名に長期抗 TNF- α 抗体療法を施行し、サイトカイン産生細胞を経時的に測定することにより、抗 TNF- α 抗体投与直後に IFN- γ 産生細胞は増加し TNF- α 産生細胞は減少する傾向を

示した。長期療法中には IL-12 受容体発現も経時的に検討し、治療中増加する傾向を認めた。今回我々は治療終了後のサイトカイン産生細胞と IL-12 受容体発現を追跡し、臨床所見との相関および免疫薬理学的機序を解析した。

B. 研究方法

眼発作を繰り返す活動性ベーチェット病患者 3 名に長期抗 TNF- α 抗体療法を行い、同意を得て治療中および終了後 PBMC を分離した。治療終了後 16 週までを研究範囲とした。PBMC は解析に使用するまで -196°C で保存した。長期抗 TNF- α 抗体療法は、

0,2,6,14,22,30,38,46週に5 mg/kgのinfliximabを点滴投与した。ELISPOT法は文献⁴⁾に従い、以下の方法で行った。すなわちニトロセルロース96穴プレートに抗サイトカイン抗体を一晩コートし、翌日PBMCを一定の濃度で撒き、18時間培養して細胞を洗いきる。ビオチン化抗サイトカイン二次抗体、次にアビジンアルカリフォスファターゼ、その後発色基質を加えると、サイトカインを産生した細胞の局在に一致して青色のスロットが現れる。乾燥の後、画像処理機能を持つKS ELISPOT(Carl Zeiss)にてスポットを自動測定し、 10^6 個あたりの無刺激下でのサイトカイン産生細胞数を求めた。リンパ球上のIL-12受容体発現は、PE標識抗IL-12R β 1抗体とFITC標識抗CD3抗体を用いて二重染色し、フローサイトメトリー法にて陽性細胞の頻度を解析した。ソフトウェアはCell Quest(Beckton Dickinson)を用いた。

C. 研究結果

長期抗TNF- α 抗体療法を受けた3名の活動性ベーチェット病患者は全例、治療開始前は頻繁に眼発作を繰り返していた。治療開始後はシクロスポリン内服中断にもかかわらず、眼発作回数の著大な改善が認められ、1例は治療中一度も眼発作を認めなかった。ほかの2例は治療中一度だけ軽い眼炎症を認めた。2例は46週の治療終了後、16~20週で眼発作を再び繰り返すようになった。治療中から治療終了後を通じて、症状寛解期にはTNF- α 産生細胞は持続的に低値を示し、眼発作増悪期に一致してTNF- α 産生細胞は高値であった。IFN- γ 産生細胞とIL-12受容体発現細胞の頻度は臨

床経過のいかんによらず治療中は高いレベルを保ち、治療後に低下して治療前のレベルに戻った。

D. 考察

抗TNF- α 抗体療法の作用には可溶性TNF- α の中和のみならず、TNF- α 産生細胞の機能抑制もあると考えられた。治療中の臨床的増悪・寛解はTNF- α 産生細胞数の増減と並行しており、改めてTNF- α が病態の中枢にあることが示唆された。全例ともinfliximabの血中濃度は安定しており、human anti-chimera antibody (HACA)も陰性であったことから、治療中に悪化を認めた症例ではinfliximabの効果が減弱したというよりも、病勢が上回ったと考えられる。

一方予想に反し、抗TNF- α 抗体療法中はその臨床経過のいかんを問わず、Th1型細胞はむしろ活性化された状態にあると考えられた。リウマチ患者における抗TNF- α 抗体の作用はいくつか報告がある。Infliximab投与による滑膜中のTNF- α 合成抑制⁵⁾、関節への顆粒球・Tリンパ球浸潤減少^{6,7)}が報告されているが、このリンパ球遊走の抑制には炎症組織における内皮接着分子の発現低下が関与していると考えられている^{7,8)}。炎症部位へのリンパ球遊走が抑制される結果、血中にリンパ球が蓄積することが示唆されており⁹⁾、今回我々が観察したTh1型細胞の活性化とも関連があると思われる。活動性ベーチェット病患者ではTh1サイトカインが増加していることから、抗TNF- α 抗体療法中のTh1型細胞の活性化は治療中の眼発作の増悪は引き起こさないものの、治療終了後に高い確率で起こる眼発作の再燃に関与している可能性も考えられた。

E. 結論

ベーチェット病患者のブドウ膜炎に対する抗 TNF- α 抗体療法がサイトカイン産生バランスに与える影響については今後も注意深く観察する必要がある、その知見は適切な併用薬の選択、治療プロトコール確立の一助になると思われた。

F. 研究発表

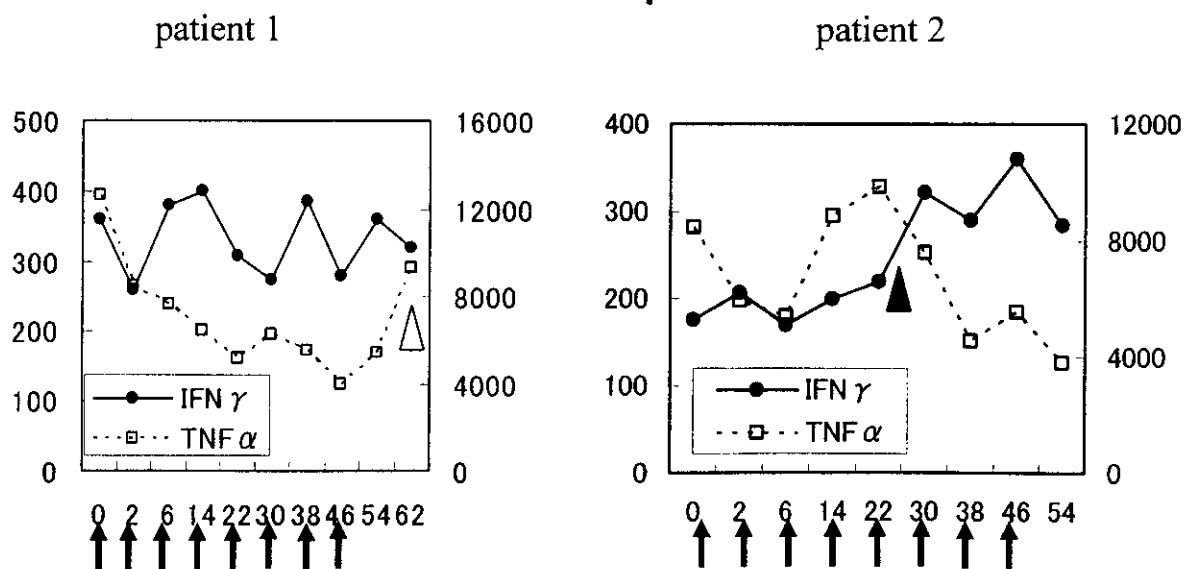
学会発表：M Misumi, E Hagiwara, S Nakamura, Y Takeda, Y Inoue, T Tsuji, A Ueda, S Ohno, N Takeno, Y Ishigatsubo. The divergent cytokine production profile and alterations in the number of cytokine-secreting cells and interleukin-12 receptor expression before and after the treatment with infliximab in patients with active Behcet's disease. American College of Rheumatology 66th National Scientific Meeting, New Orleans, Louisiana, October, 2002.

G. 参考文献

- 1) Alpsy, E et al. J Dermatol 1998;25:513-6.
- 2) Sugi-Ikai, N et al. Ophthalmol Vis Sci 1998; 39:996-1004.
- 3) Franssanito, MA et al. Arthritis Rheum 1999; 42:1967-7.
- 4) Hagiwara E et al. Arthritis Rheum 1996;39: 379-85.
- 5) Ulfgren A-K et al. Arthritis Rheum 2000;43: 2391-6.
- 6) Taylor PC et al. Arthritis Rheum 2000;43: 38-47.
- 7) Tak PP et al. Arthritis Rheum 1996;39: 1077-81.
- 8) Paleolog EM et al. Arthritis Rheum 1996;39: 1082-91.
- 9) Maurice MM et al. Arthritis Rheum 1999;42: 2166-73.

図：長期抗療法中のサイトカイン産生細胞

△ 治療終了後の再発 ▲ 治療中の発作
 ↑ 5mg/kg infliximab div



抗 TNF α モノクローナル抗体療法～臨床経過 および副作用の詳細

分担研究者	川島秀俊	東京大学医学部	眼科
共同研究者	秋山和英	東京大学医学部	眼科
	蕪城俊克	東京大学医学部	眼科
	井上賢治	東京大学医学部	眼科
	山田秀之	東京大学医学部	眼科
	福嶋はるみ	東京大学医学部	眼科
	渋谷洋文	東京大学医学部	眼科
	沼賀二郎	東京大学医学部	眼科
	藤野雄次郎	東京厚生年金病院	眼科

研究要旨

【目的】 難治性のベーチェット病患者に対する抗 TNF α 抗体 (infliximab) が新たな治療法として注目されている。

【対象と方法】 今回、臨床治験の選択基準に準じて、短期および長期臨床治験参加者をそれぞれ2症例2クール、合計3症例4クール選定し、臨床症状に加えて、血中薬剤濃度、中和抗体判定、副作用の発現等を追跡した。登録された症例は、47歳女性A（短期）・（長期）、43歳男性B（短期）、そして25歳男性C（長期）であった。

【結果】 全ての症例で、投与期間（有効性評価期間）の間は、眼発作回数はほぼ0回に抑えられたが、治験後2ヶ月頃より眼発作が出現した。薬物血中濃度は投与直後すみやかに上昇したが、治験後眼発作が発症した2ヶ月頃には投与直後の二桁程度の減少が認められた。infliximab に対する中和抗体は測定できなかった。全症例で、投与期間中に抗核抗体および抗 dsDNA IgM 抗体の上昇を認めた。また、症例Aで原因不明の一時的な血小板数低下および持続する全身皮膚症状を認めた。すべての症例において、結核などの重篤な感染症は認めていない。

【結論】 infliximab は、ベーチェット病による眼発作に対して、これまでの内服治療薬と比べて著明に強力な抑止力を示すが、投与後2～3ヶ月経過するとその抑止力が衰退すると考えられた。また、これまでの治療薬にない副作用の発現が認められ、さらなるデータの蓄積と解析が必要であり、今後、副作用を軽減し、抑制効果を継続させる治療スケジュールの開発が望ましいと考える。

A【研究目的】

ベーチェット病によるぶどう膜炎患者には、あらゆる治療に抵抗して失明に至る症例が存在する。活動性の高いベーチェット病患者において血清の TNF α (tumor necrosis factor α) 濃度が、健常人の TNF α と比較して高く、ベーチェット病の病態形成に TNF α が強く関わっている可能性が指摘されている。今回我々は、抗 TNF α 療法の一つである抗 TNF α キメラ型モノクローナル抗体 (infliximab) のベーチェット病に対する臨床的有効性を検証する。

B & C【研究方法と結果】

難治性のベーチェット病患者に対する infliximab の臨床試験の選択基準に準じて、短期臨床試験 4 回 (0, 2, 6, 10w) 点滴静注および長期臨床試験 8 回 (0, 2, 6, 14, 22, 30, 38, 46w) 点滴静注をそれぞれ、2 クール、合計 3 症例 4 クール選定し、臨床症状に加えて、血中薬剤濃度、中和抗体判定、副作用の発現等を追跡した。登録された症例は症例 A、47 歳女性、短期および長期試験、症例 B、43 歳男性、短期試験、症例 C、25 歳、男性、長期試験で、この 3 症例について体重 1 キログラムあたり 10mg 点滴静注を行った。症例 C は他施設にて短期試験がなされており、症例 C の短期試験の結果は今回の対象外である。投与前後の眼発作頻度に変化を図 1 に示す。短期、長期とも試験中には 4 クール全てで、ほぼ完全に発作が消失したが、試験後 2 ヶ月頃より、眼発作が出現した。短期試験での

infliximab の血中濃度は症例 A と症例 B が同程度を推移し、試験後眼発作が発症する 2 ヶ月後には投与直後の二桁程度の減少が認められた。自己抗体の変動を図 2 に示す。全クール中に抗核抗体、抗二重鎖 DNA IgM 抗体の出現を認めた。短期、長期とも、infliximab に対する中和抗体の出現は認められなかった。副作用として、症例 A で短期試験中に一時的な血小板減少の出現と、持続的な全身の搔痒感を伴う紅斑が出現した。

D【考察】

infliximab は欧米で、慢性関節リウマチ、クローン病に対して承認されているが、いくつかの問題点が報告されている。副作用のうち TNF α 中和抑制による感染防御の低下がある。慢性関節リウマチ患者の infliximab 投与群での結核発症頻度が非投与群に比較して有意に多く、その原因が結核の再活性化と考えられ、米国ではツベルクリン皮内テストが陽性で、結核の非活性化患者においては INH を infliximab 投与前あるいは併用することが推奨されている。また、TNF α 中和抑制により起こりうると思われる悪性腫瘍に関しては lymphoma らの報告があるが、一般に認められる頻度と同程度との結果が得られている。3 つ目の副作用として、自己免疫疾患が危惧されている。試験中に抗核抗体、抗二重鎖 DNA 抗体の出現があり、特に、SLE が危惧されるが、抗核抗体、抗二重鎖 DNA 抗体の出現に比べて、発症頻度は低いとの報告がある。4 つ目の問題点として、infliximab

抗体治療そのものの効果減弱がある。慢性関節リウマチ患者では反復投与に抵抗例の出現、また、Crohn病患者では25%に無効例が存在している。これに対する対策として、慢性関節リウマチではMTXとの併用が効果減弱を抑制するという臨床結果を得ており、欧米ではMTXとの併用療法がなされている。Crohn病では免疫抑制剤あるいはステロイドとの併用が有効と考えられている。

今回、難治性ベーチェット病による眼発作に対して、これまでの内服治療薬と比べて著明な強力な抑止力を示した。しかし、上記の副作用の出現は認められなかったものの、全症例に抗核抗体、抗二重鎖DNA IgM抗体の出現があった。また、1症例で一時的な血小板減少、掻痒感を伴う全身性紅斑の出現を認めた。

E【結論】

infliximabのベーチェット病眼発作の抑制効果は非常に優れている。今後、抑制効果が継続する治療スケジュールの開発、具体的には、infliximabの血中濃度モニターにより有効範囲の決定の有無、他剤との併用、組み合わせにより、副作用を軽減させる対処法の開発が必要であろう。

図1 投与前後の眼発作頻度の変化

図2 a 各種自己抗体の変動（短期治験）

図2 b 各種自己抗体の変動（長期治験）

文献

1) Forrester JV, et al: General description of posterior segment

intraocular inflammation (posterior uveitis). In: Posterior Segment Intraocular Inflammation (ed by Forrester JV, et al), p3-15. Kubler Pub, New York, 1998

2) 川島秀俊：最近の動向－モノクローナル抗体療法の位置づけ－ぶどう膜炎。日本臨床 60: 556-62, 2002

3) Maini RN, et al: Therapeutic efficacy of multiple intravenous infusions of anti-tumor necrosis factor α monoclonal antibody combined with low-dose weekly methotrexate in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 41: 1552-63, 1998

4) Present DH, et al: Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. N Eng J Med 340: 1398-405, 1999

5) Shanahan JC, et al: Short analytical review tumor necrosis factor- α blockade: A novel therapy for rheumatic disease. Clin Immunol 103: 231-42, 2002

F【研究発表】

論文発表

1. Sakai R, Yamagami S, Inoki T, Tsuru T and Kawashima H: Th1/Th2-balance in anterior chamber-associated immune deviation by alloantigen. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol. 2002. 240: 154-159.
2. Taeko Ohkawa, Satoru Yamagami, Rieko Sakai, Masako Kaku, and Hidetoshi

- Kawashima : Effects of anti-ab T cell receptor monoclonal antibody R73 on the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in rats. *Jpn J Ophthalmol* 2002. 41:518-524.
3. Kunimatsu S, Fujino Y, Nagata Y, Ono K, Mochizuki M, Numaga J, Kawashima H, Araie M. Ultrasound biomicroscopic study of sclerotomy sites after implantation of sustained release drug devices. *Br J Ophthalmol*. 2002. 86: 869-71.
 4. Adhikary AK, Numaga J, Kaburaki T, Kawashima H, Araie M, Ikeda Y, Ogino T, Suzuki E, Ushijima H, Mukoyama A, Matsuno S, Inada T, and Okabe N : Genetic characterization of adenovirus type 8 isolated in Hiroshima city over a 15 year period. *J Clin Pathol*. 2003. 56:120-125.
 5. Kodama M, Numaga J, Kaburaki T, Inamura M, Sakurai Y, Fujino Y, and Kawashima H : Proliferative vitreoretinopathy developed in HLA-B27-associated uveitis. *Eye*. 2003. 17: in print
 6. 田井綾子、鈴木健司、中込一之、小宮明子、黛康夫、飯倉元保、田中良一、山口正雄、土肥眞、三崎義堅、山本一彦、川島秀俊 : 多関節炎と血液検査上強い炎症所見を伴ったサルコイドーシスの一例. 日本サルコイドーシス学会. 2002. 22 : 37-40.
 7. 佐藤伸平、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、渋井洋文、吉田淳、本山祐大、秋山和英、藤野雄次郎 : ペーチェット病に対するシクロスポリンMEPC 製剤の臨床成績 . 平成 13 年度厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班. 平成 13 年度研究業績. 2002.
 8. 蕪城俊克、吉田淳、成見正作、沼賀二郎、川島秀俊、藤野雄次郎 : ペーチェット病におけるT細胞遊走性ケモカインの関与 . 平成 13 年度厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班. 平成 13 年度研究業績. 2002.
 9. 稲用和也、渋井洋文、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎 : ペーチェット病眼症に対する硝子体手術治療 . 平成 13 年度厚生省特定疾患ペーチェット病調査研究班. 平成 13 年度研究業績. 2002.
 10. 川島秀俊 : モノクローナル抗体療法～ぶどう膜炎. *日本臨床*. 60 : 556-562. 2002.
 11. 川島秀俊 : ぶどう膜炎. *実践診断指針*. 日本医師会雑誌. 348-349. 2002.
 12. 川島秀俊 : 眼内炎症における免疫反応のメカニズム. *眼組織移植と免疫*. NEW MOOK 眼科 3. 7-13. 2002
 13. 川島秀俊 : 赤ちゃんの病気&ホームケア事典. 第 13 章. 体の部位の異常～目. ひよこクラブ 12 月号. (渡辺博編集) ベネッセコーポレーション. 2002. 79-84.
 14. 川島秀俊 : 21 世紀のぶどう膜炎～動向と対策*同定不能症例の動向. *眼科紀要*. 2002. 53 : 8-9.
 15. 川島秀俊 : One Point Advice 糖尿病虹彩炎. *内科総合誌 Medical Practice*. 2002. 19 : 2108.
 16. 川島秀俊、藤野雄次郎 : 全身の自己免疫疾患と眼所見. *New Mook 眼科*. 眼の自己免疫疾患. 2003. Pp179-184.
 17. 安藤一彦、蕪城俊克、川島秀俊 : ぶどう膜の展望 2000 年. 2003. 45 : 137-172.

学会発表

1. 佐藤伸平、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、渋井洋文、吉田淳、本山祐大、秋山和英、藤野雄次郎：ベーチェット病に対するシクロスポリンMEPC製剤の臨床成績。平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班会議。2002.1. 札幌
2. 蕪城俊克、吉田淳、成見正作、沼賀二郎、川島秀俊、藤野雄次郎：ベーチェット病におけるT細胞遊走性ケモカインの関与。平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班会議。2002.1. 札幌
3. 稲用和也、渋井洋文、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎：ベーチェット病眼症に対する硝子体手術治療。平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班会議。2002.1. 札幌
4. 蕪城俊克、吉田淳、成見正作、沼賀二郎、川島秀俊、藤野雄次郎：ベーチェット病におけるT細胞性ケモカインの関与。第105回日本眼科学会総会。2002.5. 仙台
5. 佐藤伸平、蕪城俊克、櫻井真彦、鈴木康之、川島秀俊、藤野雄二郎、沼賀二郎、新家真：緑内障術後の眼内炎が疑われたVXVぶどう膜炎の1例。第105回日本眼科学会総会。2002.5. 仙台
6. 秋山和英、沼賀二郎、蕪城俊克、川島秀俊、藤野雄次郎：東大病院眼科の内因性ぶどう膜炎の臨床統計。第36回日本眼炎症学会。2002.7. 松山
7. 兒玉益広、沼賀二郎、蕪城俊克、今村明日香、櫻井真彦、藤野雄次郎、川島秀俊：網膜血管炎と重篤な増殖性変化を伴ったHLA-B27関連ぶどう膜炎の一例。第36回日本眼炎症学会。2002.7. 松山
8. 佐藤伸平、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、渋井洋文、吉田淳、本山祐大、秋山和英、小幡博人、伊藤由香、水流忠彦、藤野雄次郎：シクロスポリンMEPC製剤によるベーチェット病の治療。第36回日本眼炎症学会。2002.7. 松山
9. 蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎、伊藤由香、小幡博人、水流忠彦：原田病患者における再発症例、遷延症例の検討。第56回日本臨床眼科学会。2002.9. 盛岡
10. 渋井洋文、稲用和也、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎：ベーチェット病眼症に対する硝子体手術。第56回日本臨床眼科学会。2002.9. 盛岡
11. 兒玉益広、川島秀俊、沼賀二郎、蕪城俊克、吉田淳、大鹿哲郎、藤野雄次郎、Wu GS、Rao NA：ラット実験的ぶどう膜炎に対する徐放性副腎皮質ステロイド製剤（SURODEX®）の有効性の評価。平成14年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班。平成14年度研究業績。2003.1.
12. 秋山和英、蕪城俊克、井上賢治、山田秀之、福嶋はるみ、渋井洋文、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊抗TNF α モノクローナル抗体療法～臨床経過および副作用についての詳報。平成14年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班。平成14年度研究業績。2003.1. 福島。
13. 本山祐大、蕪城俊克、平岡美依奈、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊（東京大）、ベーチェット病の併発白内障に対する手

術成績平成14年度厚生省特定疾患ペーチ
エット病調査研究班班. 平成14年度研究
業績. 2003.1. 福島

彦、川島秀俊：巨大な乳頭新生血管を来
した uveal effusion の一症例. 第729
回東京眼科集談会. 2003.2. 東京

14. 藤村茂人、蕪城俊克、三嶋明香、櫻井真

図1) 投与前後の眼発作頻度の変化

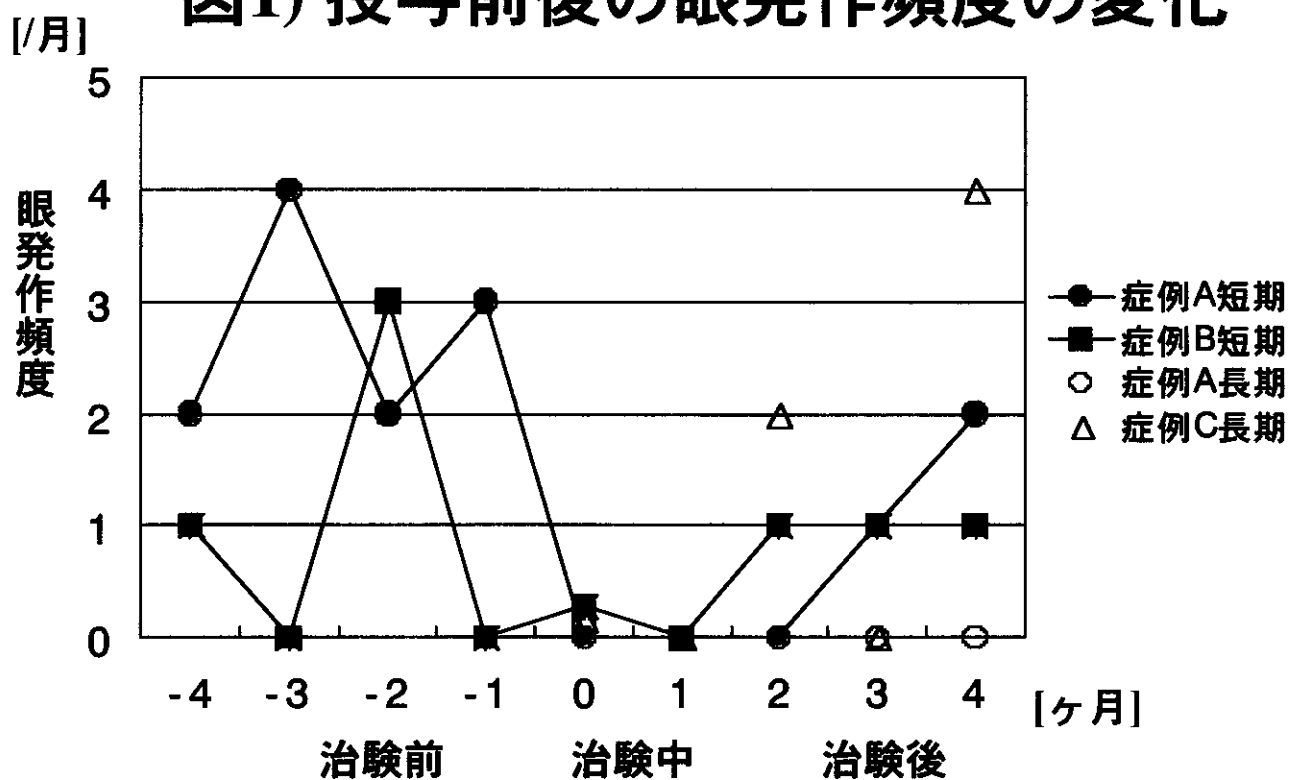


図2a) 各種自己抗体の変動 (短期治験)

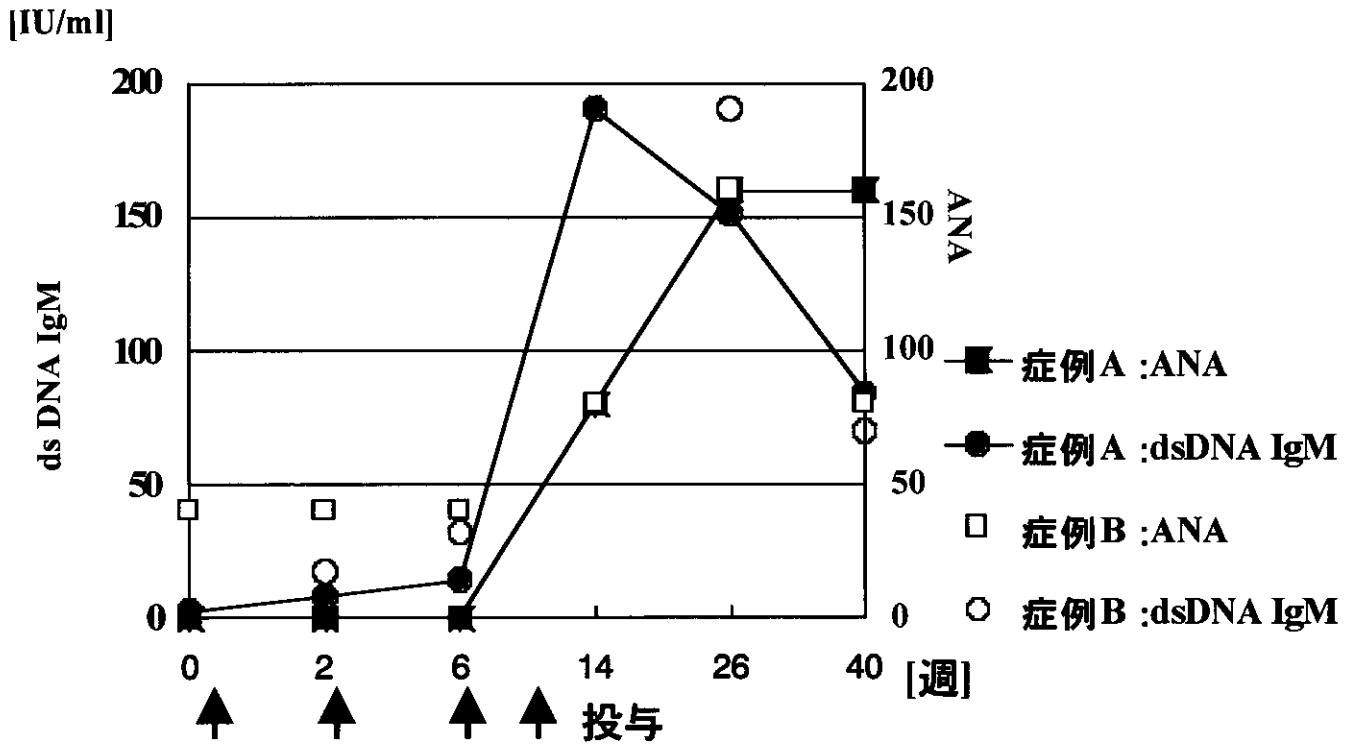
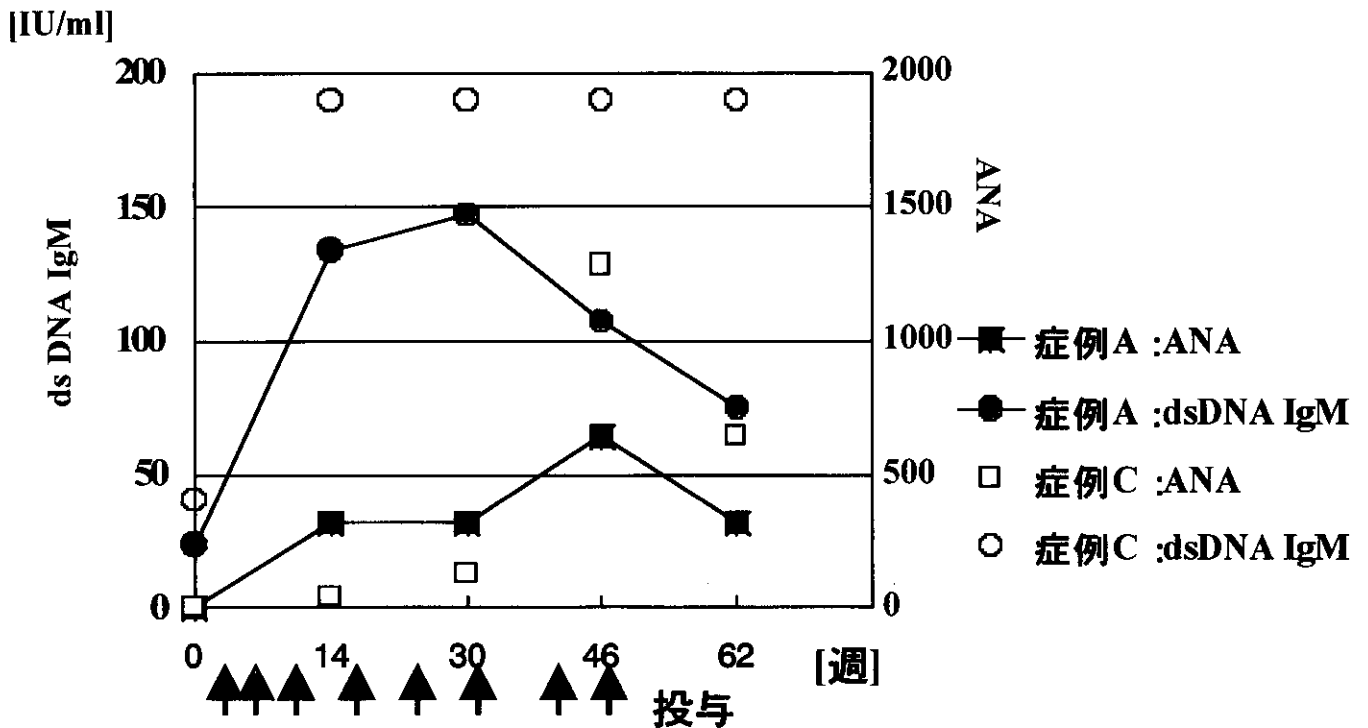


図2b) 各種自己抗体の変動 (長期治験)



ラット実験的ぶどう膜炎に対する徐放性副腎皮質ステロイド製剤（SURODEX®）の有効性の評価

分担研究者	川島秀俊	東京大学医学部	眼科
共同研究者	兒玉益広	東京厚生年金病院	眼科
	沼賀二郎	東京大学医学部	眼科
	吉田淳	東京大学医学部	眼科
	蕪城俊克	東京大学医学部	眼科
	大鹿哲郎	筑波大学医学部	眼科
	藤野雄次郎	東京厚生年金病院	眼科
	Wu GS	Doheny Eye Institute	
	Rao NA	Doheny Eye Institute	

研究要旨

【目的】副腎皮質ステロイドの徐放性製剤である SURODEX®（デキサメサゾン 60 μ g 含有）の実験的ぶどう膜炎に対する抗炎症作用を評価する。

【対象と方法】実験動物は 6 週齢雌ルイスラットを用いた。[EIU] LPS にて免疫、同時に右眼前房中に SURODEX®を挿入留置し、炎症を左眼（非留置眼）と比較した。24 時間後、前房内蛋白濃度、細胞数、MPO を調べ、左眼（非留置眼）と比較した。[EAU] 網膜 S 抗原ペプチドにて免疫後、7 日及び 12 日に右眼前房中に SURODEX®を挿入留置し、炎症を左眼（非留置眼）と比較した。同抗原に対する遅延型過敏反応（DTH）を測定した。

【結果】[EIU]留置眼で炎症は抑制された。則ち、臨床スコアの比較（留置眼対非留置眼）では 1.2 ± 0.2 対 2.3 ± 0.3 ($n=6$, $p<0.05$)、前房内蛋白濃度は 527.8 ± 472.2 対 $1147 \pm 560.0 \mu\text{g/ml}$ ($n=6$, $p<0.05$)、浸潤細胞数は 2467 ± 1094 対 25330 ± 8871 個/ μl ($n=6$, $p<0.01$)、MPO は 0.047 ± 0.031 対 0.135 ± 0.071 であった。[EAU] SURODEX®留置眼では炎症は抑制された。則ち、臨床スコアの比較（留置眼対非留置眼）では 0.0 ± 0.0 対 1.2 ± 0.8 (7 日目留置; $n=5$, $p<0.01$)、 0.6 ± 0.5 対 2.0 ± 0.0 (12 日目留置; $n=5$, $p<0.01$) であった。DTH はコントロール群に比して、留置群で低値だった。

【結論】SURODEX®はラット実験的ぶどう膜炎の炎症を抑制することができる。

A 【研究目的】

ベーチェット病の眼症状は、臨床的には発作時の硝子体混濁や網膜の浮腫、滲出斑、出血などが特徴とする、いわゆるぶどう膜炎である。ぶどう膜炎の治療と

してはその炎症抑制効果から副腎皮質ステロイドホルモン局所投与が第一選択として使用されることが多いが、効用・副作用の観点から考えると、全身投与および既存の局所投与方法に加えて、新たな

投薬の方法・投薬ルート開発と改善への期待は今尚多い。

今回我々はシビアなぶどう膜炎に至る EIU・EAU といったラットの眼炎症モデルを用いて、投与後前房内のデキサメサゾン濃度を 7 日から 10 日間およそ一定に保つことが可能な新しい徐放性ステロイド製剤、商品名 SURODEX® の抗炎症作用(予防・治療効果)を解析し、臨床応用の安全性・有用性に対する免疫学的基礎データの取得することを目的とした。

B & C 【研究方法と結果】

まず *E.coli* LPS を投与することによって EIU を誘導し、同時に投与した SURODEX® の治療効果を病理解析、細胞数、前房内蛋白濃度、MPO を指標として評価した。次に S 抗原 50 μ g による EAU において、時間差投与(免疫と同日に投与の day 0 群、7 日目投与の day 7 群、12 日目投与の day 12 群)による治療効果差異を臨床的炎症の推移によって評価した。更にその結果をふまえて day 9 投与という投与日の固定の元に、day 14 における眼内サイトカイン(IFN- γ , IL-4)を測定と day 16 における病理解析を行って、治療効果の詳細解析を行った。また、全身に及ぼす影響を見るために、(day 9→16)の体重変化と(day 14→16)の 48 時間の DTH を観察した。

EIU 実験系においては病理解析、細胞数、前房内蛋白濃度、MPO のいずれの項目に

おいても、SURODEX® 投与眼が優位に低値を示し、SURODEX® の炎症抑制効果が認められた(表 1)。EAU 実験系において、SURODEX® を day 0 に投与した群では投与眼・非投与眼ともに、ほぼ完全に炎症を抑制した。day 7 群でも投与眼は完全に炎症を抑制したものの、非投与眼では若干の抑制効果に留まっていた。day 12 群では投与眼で優位に炎症が抑制されていたが、非投与眼への抑制効果は無いという結果であった(表 2)。次に EAU において、SURODEX® 投与を day 9 と固定して病理学的スコアで比較したが、SURODEX® 投与眼では優位に EAU 発症を抑制し、かつ非投与眼にも多少の抑制効果が及んでいた。眼内 IFN- γ と IL-4 の ELISA での測定結果は、明らかに SURODEX® 投与群では IFN- γ の値が低く、IL-4 の値が高い結果となった(表 3)。体重変化、DTH ともにプラセボ群、コントロール群に比して SURODEX® 投与群では有意に低い結果となった(表 4)。実験経過中、SURODEX® 留置による近傍組織の炎症や壊死は見られなかった。

D 【考察】

EIU 実験系、EAU 実験系ともに臨床的に発症予防効果・治療効果が認められ、病理学的解析にても治療効果を認めた。また、炎症誘導するサイトカインの産生抑制が見られた。以上より SURODEX® の前房内投与留置は、ラット実験的ぶどう

膜炎モデル (EAU 及び EIU) に対し発症予防・治療効果を持つことが確認できた。眼組織局所での炎症・壊死といった明らかな障害は認められなかったが、長期間留置による全身・局所への影響が未知であり、今後の課題である。海外ではすでに人間の目に対して、白内障手術終了時に投与したという STUDY が成されており、良好な成績とともに重篤な副作用も無かったという報告がある。今後ベーチェット病を含む、難治性のぶどう膜炎に対して臨床効果が強く期待できる。

E 【結論】

ベーチェット病の眼症状を始めとする難治性のぶどう膜炎に対しては、副腎皮質ステロイドホルモン局所投与から治療開始を試みるのが原則であるが、その一つの選択肢として SURODEX® の前房内投与留置によるぶどう膜炎治療の臨床応用が期待できるのではないかと考える。

F 【研究発表】

論文発表

1. Sakai R, Yamagami S, Inoki T, Tsuru T and Kawashima H: Th1/Th2-balance in anterior chamber-associated immune deviation by alloantigen. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2002. 240: 154-159.
2. Taeko Ohkawa, Satoru Yamagami, Rieko Sakai, Masako Kaku, and Hidetoshi Kawashima : Effects of anti-ab T cell receptor monoclonal antibody R73 on the induction of experimental autoimmune uveoretinitis in rats. Jpn J Ophthalmol 2002. 41:518-524.
3. Kunimatsu S, Fujino Y, Nagata Y, Ono K, Mochizuki M, Numaga J, Kawashima H, Araie M. Ultrasound biomicroscopic study of sclerotomy sites after implantation of sustained release drug devices. *Br J Ophthalmol*. 2002. 86: 869-71.
4. Adhikary AK, Numaga J, Kaburaki T, Kawashima H, Araie M, Ikeda Y, Ogino T, Suzuki E, Ushijima H, Mukoyama A, Matsuno S, Inada T, and Okabe N : Genetic characterization of adenovirus type 8 isolated in Hiroshima city over a 15 year period. *J Clin Pathol*. 2003. 56:120-125.
5. Kodama M, Numaga J, Kaburaki T, Inamura M, Sakurai Y, Fujino Y, and Kawashima H : Proliferative vitreoretinopathy developed in HLA-B27-associated uveitis. *Eye*. 2003. 17: in print
6. 田井綾子、鈴木健司、中込一之、小宮明子、黛康夫、飯倉元保、田中良一、山口正雄、土肥眞、三崎義堅、山本一彦、川島秀俊：多関節炎と血液検査上強い炎症所見を伴ったサルコイドーシスの一例。日本サルコイドーシス学会。2002。22：37-40。
7. 佐藤伸平、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、渋井洋文、吉田淳、本山祐大、秋山和英、藤野雄次郎：ベーチェット病に対するシクロスポリン MEPC 製剤の臨床成績。平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班。平成13年度研究業績。2002。
8. 蕪城俊克、吉田淳、成見正作、沼賀二郎、

- 川島秀俊、藤野雄次郎：ベーチェット病におけるT細胞遊走性ケモカインの関与．平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班．平成13年度研究業績．2002.
9. 稲用和也、渋井洋文、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎：ベーチェット病眼症に対する硝子体手術治療．平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班．平成13年度研究業績．2002.
 10. 川島秀俊：モノクローナル抗体療法～ぶどう膜炎．日本臨床．60：556-562．2002.
 11. 川島秀俊：ぶどう膜炎．実践診断指針．日本医師会雑誌．348-349．2002.
 12. 川島秀俊：眼内炎症における免疫反応のメカニズム．眼組織移植と免疫．NEW MOOK 眼科3．7-13．2002
 13. 川島秀俊：赤ちゃんの病気&ホームケア事典．第13章．体の部位の異常～目．ひよこクラブ12月号．（渡辺博編集）ベネッセコーポレーション．2002．79-84.
 14. 川島秀俊：21世紀のぶどう膜炎～動向と対策*同定不能症例の動向．眼科紀要．2002．53：8-9.
 15. 川島秀俊：One Point Advice 糖尿病虹彩炎．内科総合誌 Medical Practice．2002．19：2108.
 16. 川島秀俊、藤野雄次郎：全身の自己免疫疾患と眼所見．New Mook 眼科．眼の自己免疫疾患．2003．Pp179-184.
 17. 安藤一彦、蕪城俊克、川島秀俊：ぶどう膜の展望2000年．2003．45：137-172.
- 学会発表
1. 佐藤伸平、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、渋井洋文、吉田淳、本山祐大、秋山和英、藤野雄次郎：ベーチェット病に対するシクロスポリンMEPC製剤の臨床成績．平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班会議．2002.1. 札幌
 2. 蕪城俊克、吉田淳、成見正作、沼賀二郎、川島秀俊、藤野雄次郎：ベーチェット病におけるT細胞遊走性ケモカインの関与．平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班会議．2002.1. 札幌
 3. 稲用和也、渋井洋文、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎：ベーチェット病眼症に対する硝子体手術治療．平成13年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班会議．2002.1. 札幌
 4. 蕪城俊克、吉田淳、成見正作、沼賀二郎、川島秀俊、藤野雄次郎：ベーチェット病におけるT細胞性ケモカインの関与．第105回日本眼科学会総会．2002.5. 仙台
 5. 佐藤伸平、蕪城俊克、櫻井真彦、鈴木康之、川島秀俊、藤野雄次郎、沼賀二郎、新家眞：緑内障術後の眼内炎が疑われたVXVぶどう膜炎の1例．第105回日本眼科学会総会．2002.5. 仙台
 6. 秋山和英、沼賀二郎、蕪城俊克、川島秀俊、藤野雄次郎：東大病院眼科の内因性ぶどう膜炎の臨床統計．第36回日本眼炎症学会．2002.7. 松山
 7. 兒玉益広、沼賀二郎、蕪城俊克、今村明日香、櫻井真彦、藤野雄次郎、川島秀俊：網膜血管炎と重篤な増殖性変化を伴った

- HLA-B27 関連ぶどう膜炎の一例. 第 36 回日本眼炎症学会. 2002.7. 松山
8. 佐藤伸平、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、渋井洋文、吉田淳、本山祐大、秋山和英、小幡博人、伊藤由香、水流忠彦、藤野雄次郎：シクロスポリン MEPC 製剤によるベーチェット病の治療. 第 36 回日本眼炎症学会. 2002.7. 松山
 9. 蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎、伊藤由香、小幡博人、水流忠彦：原田病患者における再発症例、遷延症例の検討. 第 56 回日本臨床眼科学会. 2002.9. 盛岡
 10. 渋井洋文、稲用和也、蕪城俊克、川島秀俊、沼賀二郎、藤野雄次郎：ベーチェット病眼症に対する硝子体手術. 第 56 回日本臨床眼科学会. 2002.9. 盛岡
 11. 兒玉益広、川島秀俊、沼賀二郎、蕪城俊克、吉田淳、大鹿哲郎、藤野雄次郎、Wu GS、Rao NA：ラット実験的ぶどう膜炎に対する徐放性副腎皮質ステロイド製剤 (SURODEX®) の有効性の評価. 平成 14 年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班. 平成 14 年度研究業績. 2003.1. 福島
 12. 秋山和英、蕪城俊克、井上賢治、山田秀之、福島はるみ、渋井洋文、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊抗 TNF α モノクローナル抗体療法～臨床経過および副作用についての詳報. 平成 14 年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班. 平成 14 年度研究業績. 2003.1. 福島
 13. 本山祐大、蕪城俊克、平岡美依奈、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊 (東京大). ベーチェット病の併発白内障に対する手術成績平成 14 年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班. 平成 14 年度研究業績. 2003.1. 福島
 14. 藤村茂人、蕪城俊克、三嶋明香、櫻井真彦、川島秀俊：巨大な乳頭新生血管を来した uveal effusion の一症例. 第 729 回東京眼科集談会. 2003.2. 東京

表 1

	SURODEX®投与眼	非投与眼	
病理学的スコア	1.2 ± 0.2	2.3 ± 0.3	p<0.05
細胞数 (µg/ml)	527.8 ± 472.2	1147 ± 560.0	p<0.05
前房内蛋白濃度 (cells/µl)	2467 ± 1094	25330 ± 8871	p<0.01
MPO (units/eye)	0.047 ± 0.031	0.135 ± 0.071	p<0.05

表 2

	SURODEX®投与眼	非投与眼	
0 day 投与	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	
7 day 投与	0.0 ± 0.0	1.2 ± 0.8	p<0.05
12 day 投与	0.6 ± 0.5	2.0 ± 0.0	p<0.01

表 3

	SURODEX®投与眼	非投与眼
IFN-γ (pg/ml)	40.961	749.660
I L-4 (pg/ml)	31.737	5.207

表 4

	体重増加率 (%)	DTH (µm)
SURODEX®投与群	98.0 ± 1.4	76 ± 11
プラセボ投与群	107 ± 0.8	198 ± 21
コントロール	105 ± 0.8	208 ± 26