

分担研究報告書

ベーチェット病に対する第一選択薬コルヒチン使用中にCK値の上昇を認めた5例

分担研究者：川島秀俊	さいたま赤十字病院眼科
共同研究者：高本光子	東京都老人医療センター
蕪城俊克	東京大学医学部付属病院眼科吉田淳
吉田 淳	東京都老人医療センター眼科
沼賀二郎	東京都老人医療センター眼科
藤野雄次郎	東京厚生年金病院眼科

研究要旨

コルヒチン投与中のベーチェット病患者にミオパチーと考えられる自覚症状とCK値の上昇を認め、コルヒチンの減量を余儀なくされた5例を経験したのでその報告と検討をする。

5例の特徴としてはシクロスポリンや抗TNF $\alpha$ 抗体など多剤併用例が多く、また、腎機能障害のあるものは認めなかったことがあげられる。また、自覚症状は多彩で、自覚症状出現と同時期にいずれもCK値の上昇が見られ、投薬量の変更の後に速やかに症状の改善とCK値の正常化を見た。比較的副作用が穏やかで第一選択薬とされているコルヒチンであるが、その投与中は受診時の問診と定期的な血液検査が不可欠であると考えた。

A. 目的

ベーチェット病治療において、コルヒチンは第一選択薬である。消化器症状などの副作用は、頻発するものの重篤になる事は稀である。今回我々は、コルヒチン投与中のベーチェット病患者にミオパチーと考えられる自覚症状とCK値の上昇を認め、コルヒチンの減量を余儀なくされた5例を経験したので、その報告および検討をする。

B. 症例

症例1：39歳男性、2000年発症完全型ベーチェット病。2001年5月コルヒチン1mg内服開始し、

1ヵ月後、足がつる、足の痺れを自覚した。症状の訴えのあった日の採血でCK=660と上昇、直ちにコルヒチン内服を0.5mgに減量したところ、2週間後にはCK=163であり、足のしびれも消失した。

症例2：64歳男性、1965年発症完全型ベーチェット病。1988年よりシクロスポリン、1993年よりコルヒチンを内服していた。2001年12月にコルヒチンを0.5mgから1mgに増量していた。増量より1ヵ月後、全身倦怠感、腹部不快感、全身の痛みを自覚し、CK=2835と上昇していた。直ちにコルヒチンを1mgから0.5mgの隔日投与へと変更したところ、3週間後にはCK=127で

あり、症状も消失していた。

症例3：46歳男性、1980年発症完全型ベーチェット病。1999年初診時より、コルヒチンとシクロスポリンを併用していた。2003年7月よりシクロスポリンを150mgから200mgへ増量した。同年8月に6kgの体重減少、動悸、息切れ、四肢の筋力低下、脱力感を自覚した。同時期の採血ではCK=1185と上昇していたが眼発作頻度が高かったため、同じ投薬で経過を見たところ、一度はCK値が700台と減少傾向を見せたが、10月にはCK=1590と再上昇したため、シクロスポリンとコルヒチンを減量したところ、11月にはCK=126と減少し、自覚症状も消失した。

症例4：43歳男性、1990年発症完全型ベーチェット病。1996年よりシクロスポリン、1998年よりコルヒチン1mg内服を開始していた。2000年2月より4月に抗TNF $\alpha$ 抗体の治験に参加、同時にシクロスポリンを中止し、10月に再開していた。2001年3月、頸部・四肢の筋力低下、食欲不振、下痢を自覚した。同時期の採血でCK=639と上昇、直ちにコルヒチン、シクロスポリンを減量したところ、1週間後にCKは正常値となった。

症例5：28歳男性、1996年発症不全型ベーチェット病。1996年よりシクロスポリン内服開始、1997年コルヒチン併用を開始していた。1997年から2001年8月までプレドニンを併用していた。2001年8月から抗TNF $\alpha$ 抗体治療の治験に参加し、2003年3月までの間に抗体投与を計14回受けていた。治験期間中はシクロスポリン、プレドニン内服は中止していた。治験終了後の2002年9月、シクロスポリン、プレドニンを再開していた。2003年2月、易疲労感、下痢を自覚し、同時期の採血ではCK=935と上昇を認めため、コルヒチンを中止したところ、2週間後にはCKは正常値になり、症状も消失した。

## C. 結果

症例はいずれも男性。自覚症状出現時、年齢は48 $\pm$ 14歳、完全型4例、不全型1例であった。コルヒチン内服歴は症例1では1ヶ月であったが、他は数年の経過を経ていた。また、症例2のように投与量を増量して1ヵ月後に発症するものもあった。CK上昇時のコルヒチン投与量は5例とも1日1mgであった。シクロスポリン併用例が4例、2例にレミケード併用歴があった。腎機能障害を認めていたものはなかった。自覚症状は、筋力低下2例、全身倦怠感、易疲労感、痺れ、体重減少、動悸息切れが各1例ずつで、同時期の採血でCKは639-2835(正常値44-166)と著明な上昇を認めた。コルヒチンを減量したものが4例、1例は中止した。2例ではシクロスポリンも減量した。全例、投与量の変更の後、数週間で速やかに自覚症状は改善され、CK値も正常化した。

## D. 考察

過去のコルヒチンミオパチーは腎機能障害のある症例での報告が多く、腎機能障害はリスクファクターと考えられている<sup>1)</sup>が今回は腎機能障害を認めたものはなく、腎機能が正常で常用量の投与であっても、十分注意しなければならないことが考えられた。

また、今回の5例では、単剤投与は1例のみでシクロスポリン、抗TNF $\alpha$ 抗体などの多剤併用例が多い結果だった。過去の報告でもミオパチー発症例はシクロスポリンの併用例が多く<sup>2)3)</sup>、シクロスポリンは腎機能障害の副作用の頻度が高いためといわれている。シクロスポリン単剤投与でのミオパチーは非常にまれだが、今回のように腎機能障害のない例ではシクロスポリン自身の関与の可能性も考えられる。また、今回の5例のうち、2例に抗TNF $\alpha$ 抗体の投与歴のあるものが含まれていたことは注意すべき

点といえる。これまでに抗TNF $\alpha$ 抗体は慢性関節リウマチや、クローン病に使用されているがその副作用にミオパチーの報告はない。抗TNF $\alpha$ 抗体がコルヒチン併用時に、ミオパチー発症の頻度を高める可能性があり、注意が必要と考える。

#### E. 結論

ベーチェット病でコルヒチン使用時に、ミオパチーと考えられる自覚症状と、CK値の上昇を認め、コルヒチンの減量または中止により改善を認め、コルヒチンミオパチーと考えられた5例を経験した。コルヒチンミオパチーは比較的稀な副作用とされているが、ベーチェット病に対するコルヒチン投与は適応外使用であり、また、様々な自覚症状を呈しうるので注意が必要である。併用薬との相乗効果がどの程度寄与しているかは不明だが、さらなる検討を要する事項であろう。比較的副作用が穏やかで、第一選択薬とされるコルヒチンだが、その投与中は、受診時の自覚症状の問診とともに、定期的な血液検査が不可欠であると考えた。

#### 参考文献

- 1) Stanley L. Wallace, et al. Renal function predicts colchicines toxicity : Guidelines for the prophylactic use of colchicine in gout. The Journal of Rheumatology 1991; 18:264-269
- 2) 藤井裕子、有村義宏 他：コルヒチンとシクロスポリンの併用療法中にニューロミオパチーを呈したベーチェット病の1症例. リウマチ43 : 44-50, 2002
- 3) 柴田興一、竹内 恵 他：サイクロスポリン使用中にミオパチーを呈したBehcet's病の一症例. 臨床神経学31 : 847-852, 1991

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. Atsushi Yoshida, M.D., Hidetoshi Kawashima, M.D., Yuta Motoyama, M.D., Hirobumi Shibui, M.D., Atsushi Taniai, M.D., Mayumi Kitagawa, M.D., Toshikatsu Kaburaki, M.D., Kazuyuki Shimizu, M.D., Yasuho Izawa, M.D., Kiyofumi Hayashi, M.D., Jiro Numaga, M.D., Yujiro Fujino, M.D., and Kannjiro Masuda: The statistical comparison of patients with Behcet's disease between the 1980's and the 1990's. Ophthalmology. 111:810-815. 2004.
2. Kazuhide Akiyama, Jiro Numaga, Fumie Kagaya, Yutaka Takazawa, Shigenobu Suzuki, Nobuyuki Koseki, Satoshi Kato, Toshikatsu Kaburaki, and Hidetoshi Kawashima. A case of Optic Nerve Involvement in Metastasis of Gastrointestinal Stromal Tumor. Jpn J Ophthalmol. 48:166-168. 2004.
3. Ohno S, Nakamura S, Hori S, Shimakawa M, Kawashima H, Mochizuki M, Sugita S, Ueno S, Yoshizaki K, and Inaba G: Efficacy, safety, and pharmacokinetics of multiple administration of infliximab in Behcet's disease with refractory uveoretinitis. J Rheumatol. 31:1362-1368. 2004.
4. Dale S Gregerson and H Kawashima. APC derived from donor splenocytes support retinal autoimmune disease in allogeneic recipients. J Leukocyte Biology. 76:383-387. 2004.
5. 蕪城俊克、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊(東京大). ベーチェット病に対する長期低容量ステロイド併用療法. 平成15年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班. 平成15年度研究業績. pp65-70. 2004.

6. 藤村茂人、蕪城俊克、沼賀二郎、藤野雄次郎、川島秀俊(東京大). ベーチェット病などのぶどう膜炎に続発する緑内障の臨床統計. 平成 15 年度厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班班. 平成 15 年度研究業績. p p60-64. 2004.
7. 蕪城俊克、川島秀俊:ぶどう膜炎併発緑内障における手術の適応・術式の選択・術後処置. あたらしい眼科. 21:13-19. 2004.
8. 川島秀俊:赤ちゃんの病気&ホームケア事典. 第?章.体の部位の異常一目. ひよこクラブ 6 月号. ベネッセコーポレーション. p 179-p182. 2004.
9. 川島秀俊:免疫抑制薬. 眼薬理. 18:44-46. 2004.
10. 川島秀俊:59.急性出血性結膜炎. 感染症. 竹田美文、木村哲編集. 朝倉書店. 280-281. 2004
11. 川島秀俊:60.流行性角結膜炎. 感染症. 竹田美文、木村哲編集. 朝倉書店. 356-358. 2004
12. 川島秀俊:複視. BRAIN. 77:6-7.日本脳神経財団. 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎におけるアロニア抽出物の治療効果

分担研究者 大野重昭（北海道大学視覚器病学分野）

研究協力者 鈴木由香利 大神一浩 白取謙治 金学海

（北海道大学視覚器病学分野）

研究要旨

目的；アロニア抽出物（ACE）には抗酸化作用を持つことが知られているフラボノイド、アントシアニンが多く含まれている。これまで我々は抗酸化作用の強い化合物、抽出物ではNO合成抑制作用を介して、ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎（EIU）を抑制することを報告した。今回は、EIUにおけるACEの治療効果を検討した。また、NO合成酵素（iNOS）、PG合成酵素（COX-2）の発現についても検討した。

方法；LPS投与直後のルイスラットに1、10、100mgのACEを尾静脈内投与した。24時間後、前房水を採取し、前房水中のタンパク濃度、炎症細胞数、NO濃度、PGE2濃度およびTNF- $\alpha$ 濃度を測定した。また、10mgプレドニゾン（PSL）も同ジスケジュールで投与した。また、RAW264.7細胞による、iNOS、COX-2の発現はWestern blotting法を用いて検討した。

結果；LPS群と比較して、ACEはLPSで惹起された前房水中のタンパク濃度、炎症細胞数、NO濃度、PGE2濃度およびTNF- $\alpha$ 濃度を濃度相関的に顕著に抑制した。100mg ACE群の抗炎症効果は10mg PSLとほぼ同程度であった。またACEはLPSで誘導されたiNOSおよびCOX-2タンパクの発現を濃度相関的に有意に抑制した。

結論；ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎においてACEは濃度相関的に抑制効果を示し、特に100mg ACEの抑制効果は10mg PSLとほぼ同程度であった。今回の結果から、ACEは眼炎症に対する消炎治療薬としての可能性が示唆された。

A. 研究目的

アロニア抽出物（ACE）には抗酸化作用を持つことが知られているフラボノイド、アントシアニンが多く含まれている。これまで我々は抗酸化作用の強い化合物、抽出物はNO合成抑制作用を介して、ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎（EIU）を抑制することを報告した。したがって、ぶどう膜炎の治療には酸化ストレスの除去が有効でないはないかと思われた。そこで、あたらしい治療薬の探索の一環として、EIUにおけるACEの治療効果を検討した。また、NO合成酵素（iNOS）、PG合成酵素（COX-2）の発現についても検討した。

B. 研究方法

ルイスラットのfootpadにそれぞれLPSを100 $\mu$ g投与した。その後、0.1%DMSOを含むPBSでACEを1,10,100mgになるように調整し、ラット尾静脈に0.1ml投与した。24時間後に前房水を採取した。前房水中のタンパク濃度、炎症細胞数、NO濃度、TNF- $\alpha$ 濃度、PGE2濃度、MCP-1濃度を測定した。TNF- $\alpha$ 、PGE2およびMCP-1濃度はELISA法で検討した。また、ACE中に含まれる抗酸化作用があることが知られているケルセチン、アントシアニンについてもACEと同じスケジュールにて検討した。さらに、ACEの抗炎症効果の程度を知る目的でPSL10mgを尾静脈内投与した。プレドニゾロ

ン (LPS) のみおよびコントロール群には 0.1% DMSO を含む PBS と同じ量を投与した。

### C. 研究結果

前房水中のタンパク質濃度への影響； ACE は濃度相関的に有意に前房水中タンパク質濃度を減少させた。しかし、ケルセチン、アントシアニンの効果はみられなかった。

前房水中の炎症細胞数への影響； LPS 群と比較し、ACE では濃度相関的に有意な炎症細胞数の減少がみられた。特に ACE100mg 群での炎症細胞数の減少は PSL と同程度であった。一方、ケルセチン 100mg では有意な減少がみられるものの、その効果は ACE1mg とほぼ同程度だった。アントシアニンの効果はみられなかった。前房水中の NO への影響； タンパク質への影響と同様であった。特に ACE100mg 群の効果は PSL とほぼ同程度だった。前房水中の炎症メディエータへの影響； ACE 処理の TNF- $\alpha$  濃度は濃度相関的に減少した。ケルセチン処理においても LPS で惹起された TNF- $\alpha$  濃度を有意に減少されたが、ケルセチン 100mg 群の抑制効果は ACE 1mg とほぼ同程度であった。アントシアニンでは 100mg で有意差がみられたが、その程度は ACE1mg よりも小さかった。TNF- $\alpha$  濃度への影響と同様に ACE10mg、100mg と PSL は、ほぼ同程度であった。MCP-1 濃度は ACE100mg、PSL で有意な減少がみられたが、ケルセチンおよびアントシアニンには効果がみられなかった。iNOS と COX-2 発現への影響； LPS により iNOS および COX-2 とともに強く誘導された。ACE は濃度依存的に iNOS および COX-2 を抑制した。また、ACE1000  $\mu$ g/ml においても細胞毒性はみられなかった。

### D. 考察

以上の成績より、ACE は前房水中のタンパク質濃度、炎症細胞数、NO 濃度、PGE2 濃度および TNF- $\alpha$  濃度を濃度依存的に

抑制した。その効果は、ACE 100mg は PSL 40mg/kg と同程度の強い抗炎症作用を示した。その作用機序として、ACE は NO 産生抑制、PG 産生抑制を介して炎症を抑制することが示唆された。また、ACE 中に含まれるケルセチンあるいはアントシアニンの抗炎症効果だけでは、ACE の抗炎症効果を十分に説明できなかった。すなわち、未知の機能性物質の存在の可能性あるいは相乗効果があるのではないかと考えられた。今後、眼発作のモデルである実験的網膜ぶどう膜炎モデルなどで ACE の抗眼炎症作用について詳細に検討する必要がある。

### E. 結論

ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎において ACE は濃度相関的に炎症抑制作用を示し、特に 100mg ACE の抑制作用は PSL 40mg/kg とほぼ同程度であった。したがって、ACE は眼炎症に対する消炎治療薬としての可能性が示唆された。

### G. 研究発表

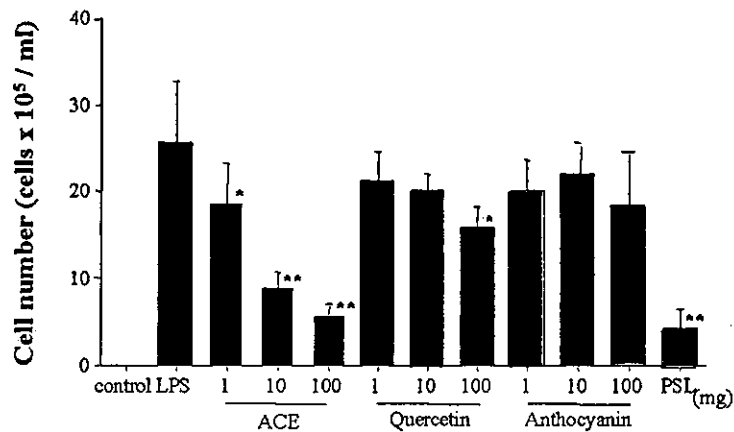
1. 論文発表
  - a. Ohgami K, Ilieva B.I, Shiratori K, Jin X.H, Suzuki Y, Yoshida K, Kase S and **Ohno S**; Anti-inflammatory effects of aronia crude extract against rat endotoxin-induced uveitis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* (in press)
  - b. Nishida T, Miyata S, Itoh Y, Mizuki N, Ohgami K, Shiratori K, Ilieva B.I, **Ohno S**, Taylor A.W; Anti-inflammatory effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone against rat endotoxin-induced uveitis and the time course of inflammatory agents in aqueous humor. *International Immunopharmacology* 2004 ;4:1059-1066
  - c. Shiratori K, Ohgami K, Ilieva IB, Koyama Y, Yoshida K, **Ohno S**; Inhibition of endotoxin-induced uveitis and potentiation of cyclooxygenase-2 protein expression by alpha-melanocyte-stimulating hormone. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2004;45:159-164

2. 学会発表

- a. Ohgami K, Ilieva I, Shiratori K, Yazawa K, and **Ohno S**; The effects of Ginkgo Biloba Extract on Lipopolysaccharide-Induced Inflammation in Vitro and in Vivo. XI International Conference on Behcet's Disease Oct.27-31, 2004, Antalya (Turkey)
- b. Ohgami K, Shiratori K, Ilieva I, Yazawa K, and **Ohno S**; The effects of astaxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and invivo. Association for

Research in Vision and Ophthalmology  
Apr. 26-30, 2004, Fort Lauderdale (USA)

- c. 大神一浩、白取謙治、イリアナイリエバ、吉田和彦、矢澤一良、大野重昭；ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎におけるイチョウハ抽出物の治療効果  
第108回日本眼科学会総会 4月15日～18日 東京



Effect of aronia crude extract on LPS-induced anterior chamber cells. The aqueous humor was collected 24 hours after LPS treatment. Each value represents the mean  $\pm$  SD of 8 rats. Asterisks (\*,\*\* ) indicate a significant difference from the LPS group at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively. The dose of prednisolone (PSL) was 10mg.

分担研究報告書

ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎におけるイチョウ葉抽出物の治療効果

分担研究者 大野 重昭 北海道大学大学院医学研究科教授

研究分担者 白取謙治、大神一浩、イリアナイリエバ、吉田和彦、矢澤一良

研究要旨

フラボノイドおよびテンペノイド類を含むイチョウ葉抽出物（GBE）はフリーラジカルスカベンジャーとして抗酸化ストレス作用を有することが知られている。今回、GBEの抗酸化ストレス作用に着目し、ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎モデルにおける治療効果を検討した。雄性ルイスラットにリポポリサッカライド（LPS）を投与してぶどう膜炎を惹起した。GBEは1、10および100  $\mu\text{g}/\text{rat}/0.1\text{ml}$  をLPS投与直後に尾静脈内投与した。対照群として溶媒である0.1%DMSO群、治療効果比較のためプレドニゾロン群も設け、各群6匹とした。LPS投与24時間後に前房水を採取し、タンパク濃度、細胞数、TNF- $\alpha$ 濃度およびNO濃度を測定した。前房水中のタンパク濃度は対照群と比較して、GBE濃度依存的に低値を示した。10および100  $\mu\text{g}$  GBE群の前房水中のタンパク濃度への影響は10 mgプレドニゾロン投与群とほぼ同程度であった。この結果は細胞数、TNF- $\alpha$ 濃度およびNO濃度でも同様であった。GBEはエンドトキシン誘発ぶどう膜炎において濃度依存的に抑制作用を示し、特に10  $\mu\text{g}$  GBEの抑制作用は10 mgプレドニゾロンとほぼ同程度であった。今回の結果からGBEは眼炎症に対する消炎治療薬としての可能性が示唆された。

A. 研究目的

イチョウ葉抽出物（GBE）はフラボノイドおよびテンペノイド類を含み、フリーラジカルスカベンジャーとして抗酸化ストレス作用を有することが知られている。また他にも血液凝固抑制作用、血液循環改善作用などがあり、欧州では脳梗塞、虚血性心疾患、アルツハイマー病の治療に用いられている。今回エンドトキシン誘発ぶどう膜炎に対する作用を調べた。

B. 研究方法

ルイス系ラットにリポポリサッカライド（LPS）を200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  投与し、ぶどう膜炎を惹起した。LPS投与24時間後に前房水を採取し、前房水中タンパク濃度、炎症細胞数、一酸化窒素（NO）、prostaglandin E2（PGE2）および tumor necrosis factor- $\alpha$ （TNF- $\alpha$ ）を定量した。GBEはLPS投与直後に1、10および100  $\mu\text{g}/\text{rat}/0.1\text{ml}$  静脈内投与し



た。また治療効果の比較のため、プレドニゾロン 10 mg/ rat/0.1ml 群も設け、GBE の作用と比較した。

(倫理面への配慮)

使用する動物数は最小限にとどめ、動物に与える苦痛に対して十分注意し、実験操作は予め北海道大学大学院医学研究科動物実験委員会にて審査を受け、承認を受けた後に行った。

#### C. 研究結果

LPS 投与群の前房水中タンパク濃度、炎症細胞数、NO、PGE2 および TNF-alpha 濃度は正常ラット房水と比べて有意に上昇した。この上昇に対して GBE 投与群では投与量依存的に低値を示した。10 および 100 µg GBE 群の作用は 10 mg プレドニゾロン投与群とほぼ同程度であった。

#### D. 考察

GBE はエンドトキシン誘発ぶどう膜炎において濃度依存的に抑制作用を示し、特に 10 µg GBE の抑制作用は 10 mg プレドニゾロンとほぼ同程度であった。今回の結果から GBE は眼炎症に対する消炎治療薬としての可能性が示唆された。

#### E. 結論

以上の結果から GBE はエンドトキシン誘発ぶどう膜炎に対し抑制作用を示した。

#### F. 健康危険情報

本研究は動物 (ラット) にのみ行ったも

のであることから、GBE の健康に対する影響は不明である。ちなみに GBE は本研究で用いた用量ではラットに対して毒性はみられなかった。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Ilieva I, Ohgami K, Shiratori K, Koyama Y, Yoshida K, Kase S, Kitamei H, Takemoto Y, Yazawa K, Ohno S. The effects of Ginkgo biloba extract on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. *Exp Eye Res*;79:181-187 2004

##### 2. 学会発表

大神一浩、白取謙治、イリアナイリエバ、吉田和彦、矢澤一良、大野重昭ラットエンドトキシン誘発ぶどう膜炎におけるイチョウハ抽出物の治療効果  
第 108 回日本眼科学会総会 (東京) 2004 年 4 月 15-18 日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

ベーチェット病に関する研究

分担研究報告書

『ベーチェット病動物モデルを用いた免疫制御療法の標的分子探索』

分担研究者 小野江和則 北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野  
研究協力者 岩渕 和也 北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野  
柳川 芳毅 北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野  
上出 利光 北海道大学遺伝子病制御研究所分子免疫分野  
今 重之 北大遺制研マトリックスメディスン研究分野  
北明 大州 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野  
北村 瑞 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野  
南場 研一 北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野  
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** 今年度は、新たな免疫制御法を開発する目的で、抗酸化剤 N-acetylcysteine (NAC) によるマウス樹状細胞 (DC) 株の CD40 発現調節に関する研究を行うとともに、新たな治療標的を探索する目的で、オステオポンチンノックアウト (OPN<sup>-/-</sup>) マウスにベーチェット病のモデルである実験的自己免疫性ブドウ膜炎 (EAU) を誘導し、EAU の発症・進展に及ぼす OPN の影響について研究した。DC を TNF- $\alpha$  で処理すると、細胞表面上の副刺激シグナル分子 (CD40, CD80, CD86 など) の発現増加を来す。NAC は TNF- $\alpha$  処理による DC 上の CD40 発現上昇を特異的に阻害することが判明した。したがって、NAC は DC の CD40 を介した機能 (IL-12 産生から Th1 型応答を誘導) を修飾する可能性を有すると考えられた。一方、EAU を OPN<sup>-/-</sup> マウスで誘導すると、対照 (C57BL/6; B6) マウスと比較して、平均発症日が延長し、またピーク時の平均臨床スコアが低下した。以上より、OPN はぶどう膜炎の治療標的として考慮され得る候補と考えられた。

**A. 研究目的**

ベーチェット病は Th1 優位の自己免疫疾患と考えられている。従って、Th2 バランスへ免疫系を誘導できれば、ベーチェット病の改善、治療につながると期待される。そこで、今回はマウス DC で重要な機能を有する CD40 分子の発現に関する研究を 1 つの焦点とした<sup>1)</sup>。CD40 (分子量 45~50kd) は tumor necrosis factor receptor (TNFR) に属する細胞表面分子であり、DC の他、B 細胞、マクロファージ等に発現している<sup>2)</sup>。DC に発現している CD40 は、DC の抗原提示機能発揮に重要であると同時に、IL-12 産生を介して Th1 型の免疫応答を誘導することが知られている。DC 上の CD40 は、炎症

性サイトカインや、微生物構成成分等の DC の成熟を誘導する刺激により増加することが明らかとなっている<sup>3,4)</sup>。さらに、LPS 刺激による CD40 発現の増加には、プロモーター領域の Sp-1 や NF- $\kappa$ B が重要であることが報告されている<sup>5)</sup>。しかしながら、DC 上の CD40 発現調節に関しては、未解明の部分が少なくない。今回使用した NAC は抗酸化剤で、活性酸素を捕捉する一方で、還元型グルタチオン (GSH) の合成前駆体としても機能する。NAC に免疫調節作用があることは、すでに報告されており<sup>6~8)</sup>、DC の機能抑制や B 細胞の CD40 などの発現に影響を与える事が判明している。マウス DC 細胞株 BC1<sup>9)</sup>を用い、TNF- $\alpha$  で成熟を誘導す

る系に NAC を負荷し、CD40 発現を解析し、発現修飾メカニズムを解明することを第一の目的とした。

形質転換した線維芽細胞から分泌されるリン酸化蛋白質 secreted phosphoprotein-1、シアル酸に富む骨基質蛋白質 bone sialoprotein-1、T 細胞活性化に関係するサイトカイン様蛋白質 Early T cell activation (Eta)-1 などとして、別個にクローニングされた蛋白質は、現在オステオポンチン (OPN) と呼ばれている<sup>10)</sup>。これは、1つの蛋白質の生物活性の多様な面を異なった方向から見ていたに過ぎない。OPN は分子量 41kd の分泌型糖蛋白質で、分子内に GRGDS 配列を含む integrin と相互作用する細胞外マトリックス蛋白質である。分子内にはハイドロキシアパタイトと相互作用するアスパラギン酸反復配列や Ca 結合部位や、トロンピンによる切断箇所、糖鎖結合部位などが存在する。OPN が Th1 type の免疫応答に重要な機能を担っていること、炎症局所の好中球の活性化にも関与すること、などを考えると、OPN は Th1 病である EAU についても何らかの機能を果たしているものと強く推定された。今回、OPN<sup>-/-</sup>マウスを用いて、EAU の発症・進展過程がどのように修飾されるかを明らかにすることを第二の目的とした。

## B. 研究方法

### 1. マウス DC 株 (BC1) の培養

BALB/c 脾臓由来の未熟 DC 株、BC1 を未熟のまま R1 メディウム (リコンビナント GM-CSF + NIH3T3 培養上清添加 10% FCS Iscove's Modified Dulbecco's Medium) にて継代し、必要時に TNF- $\alpha$  (40ng/ml) で 24 時間処理することにより成熟させた<sup>9)</sup>。NAC、GSH は 20 mM、1 時間で前処置し<sup>8)</sup>、それらの存在下に TNF- $\alpha$  処理などを行った。

### 2. DC 上の共刺激分子群のフローサイトメトリー解析

NAC 存在・非存在下に TNF- $\alpha$  と培養した DC を回収し、2.4G2 (抗 Fc $\gamma$ RII/III 抗体) でブロックしたのち、各種抗体で染色し、EPICS XL (Coulter Co.) にて解析した。抗体としては、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識抗マウス CD40 (clone:3/23)、CD86 (clone:GL1) 抗体、phycoerythrin (PE) 標識抗マウス CD80 (clone:16-10A1) 抗体、biotin 標識抗マウス H-2 K<sup>d</sup> (clone:SF1-1.1)、I-A<sup>d</sup> (clone:AMS-32.1) 抗体、streptavidin-Cy-Chrome などを用いた。細胞内の抗原を染色する際には、0.1% saponin を抗体・洗浄液等に添加することにより行った。

### 3. 生化学的解析

各種処理を行った細胞は 3mM EDTA を含む PBS で回収し、lysis buffer を添加し、氷上 30 分放置し、可溶化した。13,000 x g、15 分遠心し、上清を 7.5% ポリアクリルアミド電気泳動で分離、PVDF 膜に転写 (75mA 定電流、2 時間) し、イムノプロットを行った。

また、lysate を用い、extracellular signal-related kinase (ERK)1/2、p38 mitogen-activated kinase (MAPK)、c-Jun N-terminal kinase (JNK) の活性を各 kinase に対する in vitro kinase assay kit (Cell Signaling Technology) を用いて測定した。

### 4. EAU の誘導実験

6 週令♀の B6、あるいは OPN<sup>-/-</sup>マウス<sup>11)</sup> に、ヒト視細胞間レチノイド結合蛋白質 hIRBP<sub>1-20</sub> ペプチド (GP<sub>1</sub>HLFQPSLVLDMAK VLLD) 20 nmole をフロイントの完全アジュバントとともに側腹部皮下に免疫し、同日に百日咳毒素 0.1  $\mu$ g を腹腔内投与することによって EAU を誘導した<sup>12)</sup>。翌日より、マウスを散瞳後、眼底を Bonnoscope と Super Field NC Lens (Volk Optical) にて観察し、Thurau らの基準

に従って、スコア化 (0~4) した。

## 5. 倫理面への配慮

動物実験は北海道大学動物実験委員会、遺伝子組換えを含む実験系については同組換え DNA 実験安全委員会での審議を経たのち、許可を得てから実施した。

## C. 研究成果

### 1. NAC によるマウス DC 株 BC1 の CD40 発現に対する特異的抑制効果

未刺激の BC1 細胞は、TNF- $\alpha$  の添加により、成熟した樹状突起を示し、フローサイトメトリー上で CD40、CD80、CD86 の発現量が増加した。一方、NAC (20mM) で 1 時間前処理後、TNF- $\alpha$  存在下に 24 時間培養した場合には、CD80、CD86、MHC class I/II 分子の発現量には大きな変化は認められなかったが、CD40 のみが特異的に低下した。GSH を用いても、NAC と同様に CD40 の特異的な低下が認められた。さらに、この現象は、BC1 のみではなく脾臓から得た、株化していない DC でも再現された。

このメカニズムを明らかにする目的で、まず NAC が細胞内 CD40 の細胞表面への輸送に障害があるかを、細胞内 CD40 をフローサイトメトリーで解析した。その結果、NAC 処理 DC 細胞内の CD40 も同様に減少していることが判明した。この結果は CD40 に対する細胞可溶性画分のイムノプロットでも、CD40 蛋白が減少していることと一致していた。しかし、PCR によりメッセージを半定量的に解析すると、減少は認められなかった。また、NAC は ERK をはじめとする MAPK 系に、抑制的な影響を与えなかった。

### 2. OPN<sup>-/-</sup>マウスにおける EAU の解析

OPN<sup>-/-</sup>および対照の B6 マウスに EAU を誘導したところ、臨床スコアの経時変化に示されるように、OPN<sup>-/-</sup>では発症が遅れ、且つピーク時のスコアが有意

に低下していた (図 1)。

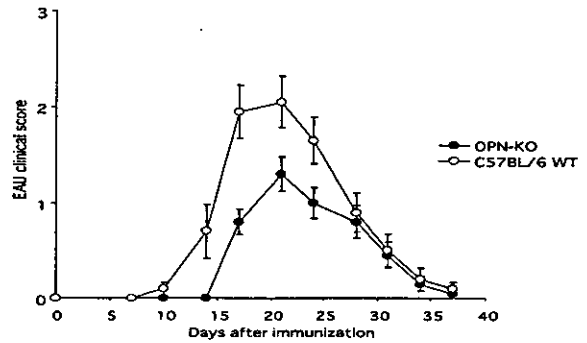


図 1 EAU 誘導後の臨床スコアの経時変化 OPN<sup>-/-</sup>及び B6 にヒト IRBP1-20 ペプチドを完全フロイントアジュバントとともに免疫、同日に百日ぜき毒素を投与し、経過を観察した。

平均発症日は、B6 で  $14.4 \pm 2.72$  日であったのに対し、OPN<sup>-/-</sup>では  $18.2 \pm 1.93$  日で、有意に遅延していた ( $p < 0.01$ )。

## D. 考察

### 1. NAC による DC 上の CD40 特異的発現抑制

今回、マウス脾臓由来 DC、および DC 株を用い、TNF- $\alpha$  による細胞表面抗原発現上昇に対する NAC の影響を解析したところ、CD40 の発現のみがほぼ完全に抑制されることを見出した。メッセージの減少は認められず、フローサイトメトリーによる細胞外・細胞内 CD40 の著しい低下、イムノプロットによる蛋白量としての低下も認められたことから、転写後発現調節機構による発現抑制と考えられた。NAC 処理により ERK、p38、JNK 活性は、いずれも影響を受けず、また NF- $\kappa$ B の阻害剤 SN-50 では、CD40 の発現抑制は認められないことから、NAC による発現抑制は NF- $\kappa$ B を介したものではなく、既存のシグナル伝達系に依存しない可能性が高いと考えられた。

予備的な結果として、CD40 発現抑制状態の DC では、抗 CD40 単クローン抗体 (HM40-3) の架橋による IL-12 産生は低下することが判明した。したがって、こ

のように誘導された DC により、Th1 ではなく Th2 バイアスの免疫応答が惹起されるものと予想される。今後、DC 上の CD40 発現抑制を介する免疫制御により、EAU の経過が改善されるかについて、検討したいと考えている。

## 2. 治療標的としての OPN

OPN<sup>-/-</sup>マウスでの EAU の発症・進展が抑制されていたことより、OPN が眼炎症においても促進的な役割を担っていることが示唆された。したがって、正常マウスにおいて OPN を治療標的とする場合は、OPN に対する抗体を使用することが考えられる。OPN には、トロンピンにより切断されることで露出する cryptic な配列<sup>13)</sup> <sup>131</sup>SLAYGLR<sup>137</sup> が存在する<sup>13)</sup>。この配列は、 $\alpha_9\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_7$  インテグリンと相互作用するとともに、好中球の遊走・活性化も惹起し、炎症反応を増悪させることが明らかにされている<sup>14)</sup>。我々は、OPN が Concanavalin A (Con A) による肝炎モデルでは、キー分子として機能しており、そのソースとして、肝 NKT 細胞が重要であることことを最近明らかにした<sup>15)</sup>。このモデルでは、Con A により NKT 細胞から分泌される OPN が、トロンピンにより cleave され、NKT 細胞を autocrine に刺激し、産生された MIP-2 により好中球を誘引し、また cleaved OPN が好中球を活性化することがさらに肝障害を促進することが判明している。したがって、OPN が、Th1 type の免疫応答に重要な機能を担っていることが考えられる。ベーチェット病においては、好中球の関与が大きく、したがって OPN は新しい治療標的として有望と考えられた。OPN 単独ではなく、MIP-2 やインテグリンに対する介入を同時に行うことで、より効果的な炎症抑制が誘導出来るのではないかと期待している。

## E. 結論

免疫応答に重要な機能を有する DC 上の CD40 の発現抑制が、NAC により特異的に誘導出来ること、OPN の遺伝子破壊により EAU の発症・進展過程を抑制することが出来ることを明らかにした。したがって、抗酸化剤である NAC の投与、OPN に対する抗体による阻害などが、EAU の新たな治療標的として考えられた。

## F. 参考文献

1. Iijima N et al *Immunology* 110: 197-205, 2004.
2. Tan J et al *EMBO J* 21:643-52, 2002.
3. De Smedt T et al *J Exp Med* 184: 1413-24, 1996.
4. Jonuleit H et al *Eur J Immunol* 27: 3135-42, 1997.
5. Tone M et al *J Biol Chem* 277: 8890-97, 2002.
6. Lian CM et al *J Biol Chem* 264: 13519-23, 1989.
7. Eylar E et al *Int Immunol* 5: 97-101, 1993.
8. Jeannin P et al *J Exp Med* 182: 1785-92, 1995.
9. Yanagawa Y et al *J Leukoc. Biol* 71: 125-32, 2002.
10. Uede T et al *Microbiol Immunol* 41: 641-8, 1997.
11. Rittling SR et al *J Bone Miner Res* 13: 1101-1111.
12. Namba K et al *J Immunol* 165: 2962-69, 2000.
13. Yamamoto N et al *J Clin Invest* 112: 181-188, 2003.
14. Yokosaki Y & Sheppard D *Trends Cardiovasc Med* 10: 155-9, 2000.
15. Diao H et al *Immunity* 21: 539-50, 2004.

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamada, H., Shimada, S., Kato, E., Morikawa, M., Iwabuchi, K., Kishi, R., Onoé, K. and Minakami, H.: Decrease in a

- specific killer cell immunoglobulin-like receptor on peripheral natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology. *Am. J. Reprod. Immunol.* 51, 241-247, 2004.
- 2) Shimada, S., Kato, E.H., Morikawa, M., Iwabuchi, K., Nishida, R., Kishi, R., Onoé, K., Minakami, H. and Yamada, H.: No difference in natural killer or natural killer T-cell population, but aberrant T-helper cell population in the endometrium of women with repeated miscarriage. *Hum. Reprod.* 19, 1018-1024, 2004
  - 3) Nagashima, T., Aranami, T., Iclozan, C. and Onoé, K.: Analysis of T cell responses to a superantigen, staphylococcal enterotoxin B. *J. Clin. Exp. Hematopathol.* 44, 25-32, 2004.
  - 4) Onoé, K., Iwabuchi, K. and Good, R.A.: T cell differentiation in allogeneic bone marrow chimeras. *Cancer Detection and Prevention*, Symposium Vol. S-153-154, 2004.
  - 5) Takagi, D., Iwabuchi, K., Iwabuchi, C., Nakamaru, Y., Maguchi, S., Ohwatari, R., Furuta, Y., Fukuda, S., Joyce, S. and Onoé, K.: Immunoregulatory defects of  $V\alpha 24^+V\beta 11^+$  NKT cells in development of Wegener's granulomatosis and relapsing polychondritis. *Clin. Exp. Immunol.* 136, 591-600, 2004.
  - 6) Aranami, T., Iclozan, C., Iwabuchi, K., and Onoé, K.: IL-7 dependent homeostasis proliferation in the presence of a large number of T cells in *gld* mice. *Microbiol. Immunol.* 48, 477-484, 2004.
  - 7) Nakai, Y., Iwabuchi, K., Fujii, S., Ishimori, N., Watano, K., Mishima, T., Iwabuchi, C., Tanaka, S., Nyambayar, D., Nakayama, T., Taniguchi, M., Miyake, S., Yamamura, T., Kitabatake, A., Joyce, S., Van Kaer, L., and Onoé, K.: Natural killer T cells accelerate atherogenesis in mice. *Blood*, 104, 2051-2059, 2004.
  - 8) Yang, L., Hakoda, M., Iwabuchi, K., Takeda, T., Koike, T., Kamatani, N. and Takada, K.: Rheumatoid factors induce signaling from B-cells, thus leading to epstein-barr virus and B-cell activation. *J. Virol.* 78, 9918-23, 2004.
  - 9) Diao, H., Kon, S., Iwabuchi, K., Kimura, C., Morimoto, J., Ito, D., Segawa, T., Maeda, M., Hamuro, J., Nakayama, T., Taniguchi, M., Yagita, H., Van Kaer, L., Onoé, K., Denhardt, D., Rittling, S., and Uede, T.: Osteopontin as a mediator of NKT cell function in T cell mediated liver diseases. *Immunity*, 21, 539-550, 2004.
2. 著書
- 1) 岩渕和也, 小野江和則: 第6項 脾臓。「モデル動物の作成と維持」, 森脇和郎, 山村研一, 米川博通編, エル・アイ・シー, 東京. 2004.
  - 2) 小野江和則: 免疫反応と免疫異常. 病態病理学. 菊地浩吉監修, 南山堂, 東京. pp. 243-259, 2004.
  - 3) 小野江和則: 免疫寛容. 「肝臓移植の実際」, 藤堂 省編, 日本医京. (印刷中)
  - 4) 藤井 聡、中井之人、三島鉄也、北島 颯、岩渕和也、小野江和則: 動脈硬化病巣進展における NKT 細胞の役割. *臨床免疫* 41, 322-5, 2004.
  - 5) C. Iclozan, T. Aranami, K. Iwabuchi and K. Onoé. Bone marrow cells differentiate into medullary thymic epithelial cells but not cortical thymic epithelial cells. *Immunology* 2004. 187-190, 2004.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む)  
なし

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
研究報告書

ベーチェット病全国疫学調査 - 患者数の推計

研究協力者 稲葉 裕 順天堂大学医学部衛生学 教授

研究要旨 本調査は全国の多施設を対象に一次調査でベーチェット病の患者数の推計、二次調査で臨床疫学像把握することを目的に、特定疾患の疫学に関する研究班と共同で実施した。一次調査対象者は2002年1年間の受療患者、調査対象科は内科(膠原病科、リウマチ科含む)、眼科、皮膚科とし、特別階層として20床以上の眼科、皮膚科病院とした。全国の病院から病床規模別に層化無作為抽出した計2,914科を対象医療機関とし、2003年1月に一次調査を開始した。一次調査の回収数は1674科(回収率57.4%)、報告患者数は7,652例であった。一次調査で患者ありと回答した施設を二次調査の対象とした。一次調査で得られた報告患者数をもとに、二次調査結果より重複率、対象期間外、診断基準外の不適格率を考慮して患者数の推計を行った。2002年1年間の全国のベーチェット病受療患者数は15,000人(95%信頼区間14,000-16,000)、男7,000人(95%信頼区間6,500-7,500)、女8,000人(95%信頼区間7,500-8,500)と推計された。これまで実施された全国調査の結果と比較、検討した。

共同研究者  
黒沢美智子  
順天堂大学医学部衛生学助手  
松葉 剛  
順天堂大学医学部衛生学助手  
西部明子  
福島医科大学医学部皮膚科学助手  
金子史男  
福島医科大学医学部皮膚科学教授  
玉腰暁子  
名古屋大学大学院医学系研究科健康社会医学  
専攻社会生命科学講座予防医学/医学推計・判  
断学助教授  
川村 孝  
京都大学保健管理センター教授

内科(膠原病科、リウマチ科を含む)、眼科、皮膚科とし、特別階層として20床以上の眼科、皮膚科病院とした。前出のマニュアルに添って全国の病院から病床規模別に層化無作為抽出した計2,914科を対象医療施設とし、2003年1月に患者数推計のための一次調査を開始した。一次調査では調査依頼状、診断基準、返信用ハガキを送付し、2月末日までに未回収の施設に督促状を送付した。

一次調査でベーチェット病患者なしの回答があった施設には礼状を送付し、患者ありと回答のあった施設を二次調査対象とした。一次調査で得られた報告患者数をもとに、二次調査結果より重複率、対象期間外、診断基準外の不適格率を考慮して患者数の推計を行った。

### C. 研究結果

病床規模別の対象数、抽出率、抽出数、各疾患の報告患者数は平成15年度業績集に掲載した。一次調査の回収数は1,674科(回収率57.4%)、報告患者数は7,652例であった。二次調査票より対象期間外や診断基準を満たさない不適格率は4.6%であった。重複チェックは調査票が匿名であるため不可能であるが、同施設内で性・年齢、カルテ番号が一致していたものは重複とみなした。重複は2.5%あった。これらを考慮して1年間の受療患者数は15,000人(95%信頼区間14,000-16,000)、男7,000人(95%信頼区間6,500-7,500)、女8,000人(95%信頼区間7,500-8,500)と推計された。

過去に実施した全国調査推計患者数と医療費

### A. 研究目的

全国の多施設を対象にベーチェット病の患者数の推計を行い、これまでに実施された全国調査と比較することを目的とする。

### B. 研究方法

本調査は特定疾患の疫学に関する研究班(主任研究者:稲葉 裕)と共同で行い、「難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル」<sup>1)</sup>に基づいて実施した。

一次調査の対象は2002年1月1日~2002年12月31日までの1年間の受療患者とし、調査対象科は

受給者数の推移を表1に示す。1991年の推計患者数は不適格率を考慮していないが、18,400人<sup>2)</sup>で、今回の推計患者数はそれより数千人少なかった。推計患者数減少の理由は不明であるが、医療費受給者数も2001年をピークに減少している。今回の全国調査二次調査結果などから、ベーチェット病患者は受療しない軽症者の割合が増加していることが考えられ、軽症化が今回の推計値に影響した可能性もある。

#### E. 結論

特定疾患の疫学に関する研究班と共同でベーチェット病の全国疫学調査を実施した。2002年1年間の全国のベーチェット病受療患者数は15,000人(95%信頼区間 14,000-16,000)と推計された。今回の推計は1991年の全国調査結果より減少していた。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表(平成16年度)

##### 1. 論文発表

英語論文

なし

日本語論文

なし

##### 2. 学会発表

- 1) Kurosawa M, Inaba Y, Nishibu A, Kaneko F, Kawakami Y, Tamakoshi A, Kawamura T. Nationwide epidemiological survey of Behcet diseases in 2003 in Japan. XI. International Conference on Behcet's Disease, Oct. 2004.
- 2) Inaba Y, Kurosawa M, Nishibu A, Kaneko F, Kawakami Y, Tamakoshi A, Kawamura T.

Epidemiologic and Clinical Characteristics of Behcet Disease in Japan: Results from Nationwide Survey in 2003. XI. International Conference on Behcet's Disease, Oct. 2004.

- 3) 稲葉 裕、黒沢美智子、松葉 剛. ベーチェット病のHLA-B51保有者の特徴. 第69回日本民族衛生学会総会 2004.11.
- 4) 黒沢美智子、稲葉 裕、松葉 剛、西部明子、金子史男、川上佳男、玉腰暁子、川村 孝. ベーチェット病の全国疫学調査 - 患者数の推計. 第15回日本疫学会学術総会. 2005.1.
- 5) 稲葉 裕、黒沢美智子、松葉 剛、西部明子、金子史男、川上佳男、玉腰暁子、川村 孝. ベーチェット病の全国疫学調査 - 臨床疫学像. 第15回日本疫学会学術総会. 2005.1.

#### G. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

#### 参考文献

- 1) 大野良之他編. 難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル. 厚生省特定疾患難病の疫学調査研究班, 1994.
- 2) 総編集大野良之他. 難病の最新情報. 南山堂、東京、106-110, 2000.
- 3) 永井正規他編. 特定疾患治療研究医療受給者調査報告書(1997年度分)その1基本集計. 厚生科学研究特定疾患対策研究事業特定疾患の疫学に関する研究班, 2000.

表1 過去に実施した全国調査推計患者数と医療費受給者数の推移

調査年	全国調査	受給者数
1972	8,500	-
1979	11,500	4,766
1984	13,000	7,921
1991	18,400	12,987
2002	15,000 (14,000-16,000)	16,834



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

研究報告書

ベーチェット病全国疫学調査 - 臨床疫学像

研究協力者 稲葉 裕 順天堂大学医学部衛生学 教授

**研究要旨** ベーチェット病に関する本調査は全国の多施設を対象に一次調査でベーチェット病の患者数の推計、二次調査で臨床疫学像把握することを目的に疫学研究班と共同で実施した。一次調査対象者は2002年1年間にベーチェット病で受療した患者とし、一次調査で患者ありと回答した施設を二次調査の対象とした。二次調査の実施計画は倫理審査委員会の承認を得た。回収された二次調査票のうち不適格例と性別不明を除いた1884例(一次調査報告患者数の24.6%)について分析し、可能な項目は過去の全国調査結果と比較した。対象は男性906例(48.1%)、女978例(51.9%)、平均年齢は男47.8歳、女51.3歳で、1972年より約10歳高くなっていた。平均発症年齢は男女とも30歳代後半で1972年より数歳高くなっていた。重症度には性差が認められ、重症、中等度の割合は男が多かった。最近の受療状況は1972年と比べて主に入院の割合が10%から0.7%に減少していた。病型は1972年以降完全型ベーチェットの割合が段階的に減少しており、特に男性でその減少が顕著であった。主症状は30年間で口腔内アフタの割合がやや減少、皮膚症状は2割以上減少、眼症状は1972年から1984年に20%以上減少し、その後の変化は認められず、外陰部潰瘍は女性の約2割、男性の約3割で減少していた。治療法も1991年と2002年の比較で内科、眼科とも漢方薬の使用が減少し、経口ステロイドの使用が増加していた。

共同研究者

黒沢美智子

順天堂大学医学部衛生学助手

松葉 剛

順天堂大学医学部衛生学助手

西部明子

福島医科大学医学部皮膚科学助手

金子史男

福島医科大学医学部皮膚科学教授

玉腰暁子

名古屋大学大学院医学系研究科健康社会医学専攻

社会生命科学講座予防医学/医学推計・判断学

助教授

川村 孝

京都大学保健管理センター教授

A. 研究目的

全国の多施設を対象にベーチェット病の患者数の推計と二次調査によって得られた臨床所見の結果から臨床疫学像を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

全国調査一次調査で患者ありと回答のあった施設を二次調査対象とした。二次調査の実施計画は本班と疫学班の主任研究者所属施設(福島医科大学及び順天堂大学)で2003年9-10月に倫理審査委員会の承認が得られ、11月に調査を開始した。

二次調査票の項目は性、年齢、発症年月、家族歴、医療費の公費負担、受療状況、最終受診日、疾患の分類、これまでに出現した主症状、副症状、臨床検査所見(HLA-B51、皮膚の針反応等)、視力(矯正)、経過、活動期、増悪因子、重症度、治療、合併症等である。二次調査結果は可能な項目について、過去に実施した全国調査結果と比較した。

C. 研究結果

回収された二次調査票のうち、対象期間外・診断基準を満たさない不適格例と明らかな重複例、性別不明を除いた1884例(一次調査報告患者数の24.6%)について分析した。

図1に二次調査票の性・年齢分布を示す。男性906例(48.1%)、女978例(51.9%)、男性は30-50

歳代が多く、女性は50-60歳代が多かった。1997年度のベーチェット病医療受給者<sup>1)</sup>の年齢分布と比べると本調査対象者は若年男性(30代)の報告がやや多かった。二次調査票の性比は0.93で、一次調査の性比0.88、1977年度のベーチェット病医療受給者<sup>1)</sup>の性比0.86と比べると二次調査対象者はやや男性の報告が多かったと思われる。

二次調査対象者の受診診療科は眼科40.4%、皮膚科と内科がほぼ同数で25.3%、25.8%、複数科・その他が8.3%であった(図2)。1997年度のベーチェット病医療受給者<sup>1)</sup>の受診診療科は内科46%、眼科23%、皮膚科21%であるので、今回の二次調査は眼科からの報告が多かったが、ベーチェット病は複数の科を受診する機会が多いので一概に言えない。

本調査結果で家族歴を有するのは1.9%で、1972年に実施した全国調査1.8%<sup>2)</sup>と比べるとほぼ同じ結果であった。平均年齢は男47.8歳(±14.0歳)、女51.3歳(±14.8歳)で、1972年調査時より約10歳高くなっていた。平均発症年齢は男35.0歳(±11.4歳)、女38.1歳(±12.2歳)であった。1972年調査結果では男31.3歳、女34.1歳、1991年の全国調査結果は男34.6歳、女36.8歳であったので、男女とも1972年と比べると4歳高くなっていた。

最近の受療状況と1972年の調査結果を図3に示す。主に入院している患者は1972年には10%であったが、今回の調査では0.7%に減少し、通院(86.5%)の割合が多くなっていた。

ベーチェット病研究班によって作成された重症度を性別にみると(図4)、重症、中等度の割合は男が47.8%、女24.2%、と男の割合が多く、軽症は男39.8%、女62.5%と女の割合が多かった( $p<0.001$ )。全体では重症41例(2.3%)、中等度605例(33.27%)、軽症940例(51.6%)、症状無し235例(12.9%)であった。重症度には性差が顕著に認められた。

病型については1972年、1984年、1991年、2002年の二次調査の結果から疑い例、分類不能例を除いた完全型、不全型のみ割合の推移を全体、性別に図5-7に示す。2002年の完全型ベーチェットの割合は28.8%で、1972年以降の全国調査結果<sup>3)</sup>と比べると段階的に減少している。図6,7に性別に完全型・不全型の割合を示す。完全型ベーチェットの割合は男女とも減少しているが、男性の方がその減少は顕著であった。

1972年から2002年までの4回の調査結果からこれまでに出現した主症状(口腔内アフタ、皮膚症状、

眼症状、外陰部潰瘍)の割合の推移を図8-11に性別に示す<sup>4)</sup>。(口腔内アフタと皮膚症状は1972年、1991年、2002年の3回の比較で、1991年については男女まとめた数値となっている。)図8に示すように口腔内アフタは1972年からの30年間にやや減少しており、男性は約1割減少、女性もやや減少していた。皮膚症状は30年間で男は約2割、女は1割強減少していた(図9)。眼症状は性差が大きい、1972年から1984年にかけて男性は20%、女性は30%以上減少し、その後はほとんど変化が認められない(図10)。外陰部潰瘍は30年間で女性は約2割減少しているが、男性は1972年から1984年にかけて約3割減少し、その後1991年に更に32%まで減少したが、今回の調査では43.8%まで上昇していた(図11)。

治療法については内科と眼科について1991年と2002年の調査結果を比較した(図12,13)。内科では経ロステロイドの使用割合が1991年には27.5%であったが今回51.6%と大きく増加していた(図12)。逆に漢方薬の使用は1991年の27.1%から2002年の3.7%と大きく減少していた。眼科でも経ロステロイドの使用は1991年の10.5%から2002年の22.3%と増加していた。漢方薬の使用も内科と同様に1991年の10.3%から1.3%へと減少していた(図13)。

## E. 結論

特定疾患の疫学に関する研究班と共同でベーチェット病の全国疫学調査を実施した二次調査結果から疾患の臨床疫学像を把握し、これまでに実施した全国調査結果と比較検討した。ベーチェット病の患者は高齢化しており、臨床像としては完全型ベーチェットの割合が減少し、全体として軽症者の割合が増加していると考えられる。しかし、今回から項目に加わった重症度分布には顕著な性差が認められ、男性に重症・中等度の割合が高かった。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表(平成15年度)

### 1. 論文発表

英語論文

なし

日本語論文

なし

2. 学会発表

- 1) Kurosawa M, Inaba Y, Nishibu A, Kaneko F, Kawakami Y, Tamakoshi A, Kawamura T. Nationwide epidemiological survey of Behcet diseases in 2003 in Japan. XI. International Conference on Behcet's Disease, Oct. 2004.
- 2) Inaba Y, Kurosawa M, Nishibu A, Kaneko F, Kawakami Y, Tamakoshi A, Kawamura T. Epidemiologic and Clinical Characteristics of Behcet Disease in Japan: Results from Nationwide Survey in 2003. XI. International Conference on Behcet's Disease, Oct. 2004.
- 3) 稲葉 裕、黒沢美智子、松葉 剛。ベーチェット病のHLA-B51保有者の特徴。第69回日本民族衛生学会総会 2004.11.
- 4) 黒沢美智子、稲葉 裕、松葉 剛、西部明子、金子史男、川上佳男、玉腰暁子、川村 孝。ベーチェット病の全国疫学調査 - 患者数の推計。第15回日本疫学会学術総会。2005.1.
- 5) 稲葉 裕、黒沢美智子、松葉 剛、西部明子、金子史男、川上佳男、玉腰暁子、川村 孝。ベーチェット病の全国疫学調査 - 臨床疫学像。第

15回日本疫学会学術総会。2005.1.

なし

G. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

- 1) 永井正規、他編。特定疾患治療研究医療受給者調査報告書(1997年度分)その1基本集計。厚生科学研究特定疾患対策研究事業特定疾患の疫学に関する研究班, 2000.
- 2) 清水保、他編。ベーチェット病患者全国疫学調査成績。厚生省特定疾患ベーチェット病調査研究班, 1974.
- 3) 中江公裕。ベーチェット病 疫学ハンドブック—重要疾患の疫学と予防—日本疫学会編 南山堂; 1998:256-259.
- 4) 中江公裕。最近のベーチェット病の疫学。日本医事新報, No3717, 124-126:1995

図1 全国調査二次調査票の性・年齢分布

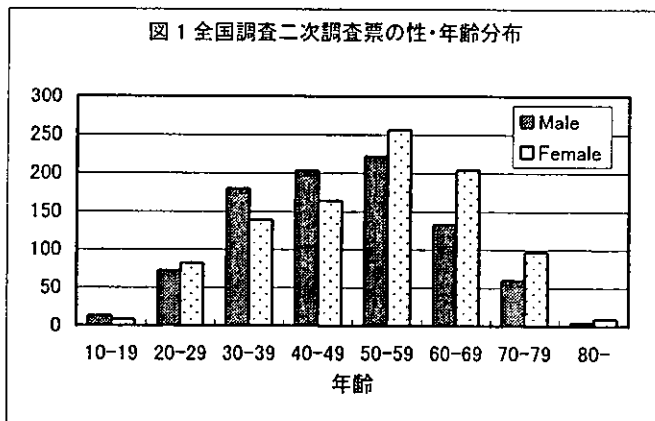


図3 最近1年間の受療状況: 1972年と2002年の比較

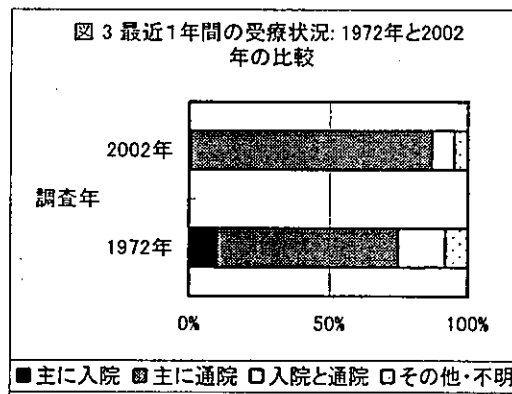


図2 二次調査対象者の受診診療科

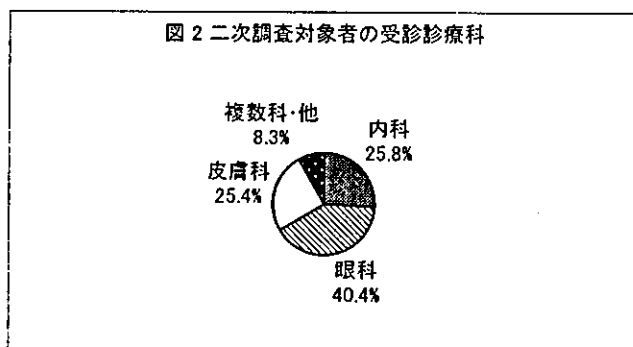


図4 性別にみた重症度割合

