

- 粘膜病変の病理学的解析と autoinflammatory syndrome としての側面：文献的レビューを含めて、ベーチェット病に関する調査研究平成18年度第1回研究班会議（H18. 7. 21-22. 福島）
- 2) 山崎修, 森実真, 青地聖子, 辻和英, 岩月啓氏：ベーチェット病における S100A8/ 9 蛋白の関与についての研究. ベーチェット病に関する調査研究 平成18年度第2回研究班会議（H 18. 12. 8-9. 福島）
- 3) 山崎修, 青地聖子, 辻和英, 岩月啓氏, 横田憲治, 小熊恵二：ベーチェット病における S100A8/ 9 蛋白の関与についての研究. 厚生労働科学研究ベーチェット病に関する調査研究 平成19年度第1回研究班会議（H19. 7. 21. 横浜）

- 4) 山崎修, 青地聖子, 白藤宜紀, 岩月啓氏：Becet 病の皮膚・粘膜病変からみた病態解析 平成19年度第2回研究班会議（H19. 12. 7-8. 福島）
- 5) Iwatsuki K. Virus-related cutaneous lymphomas. 21st. World Congress of Dermatology. September 30-October 5, 2007, Buenos Aires.
- 6) Iwatsuki K. EB virus infections and skin disorders. 21st. World Congress of Dermatology. September 30-October 5, 2007, Buenos Aires.

H. 知的財産権の出願・登録状況

国際特許出願中「ウイルス潜伏感染の検査法および検査用キット」(PCT/JP2006/317851)
 (発明者：岩月啓氏, 山本剛伸)

Serum S100A8/9 levels

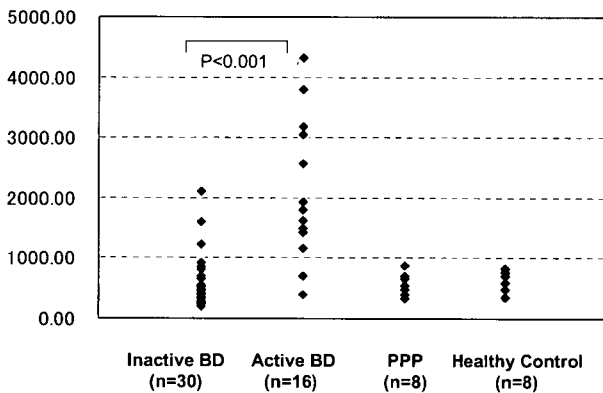


図1 血清 S100A8/ 9 濃度

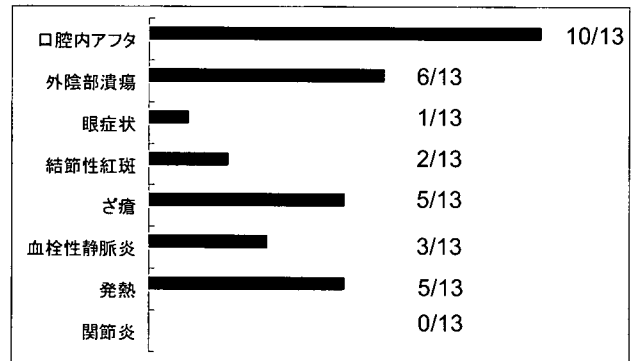


図2 S100A8/ 9 高値の BD における臨床症状

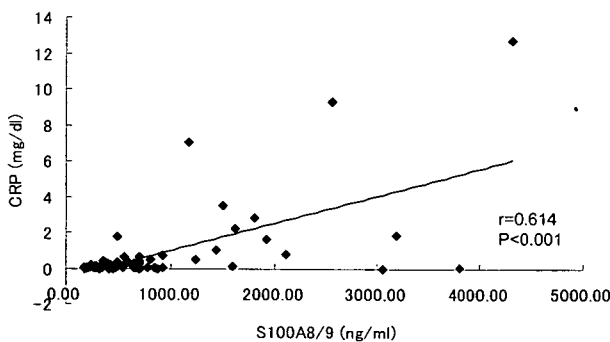


図3 血清S100A8/ 9とCRPの相関

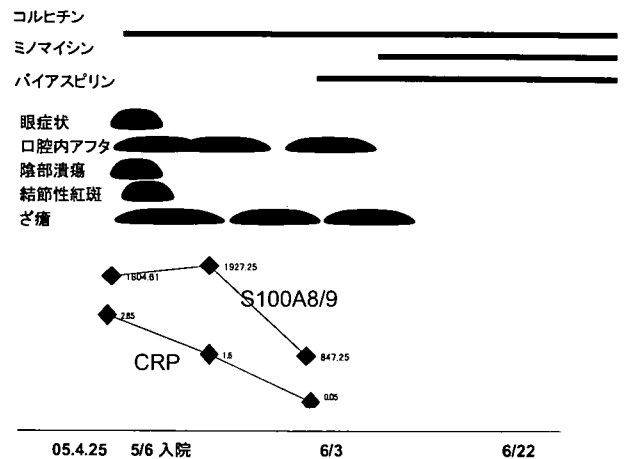


図4 経時的に測定できた症例提示

図5 S100A8/9level

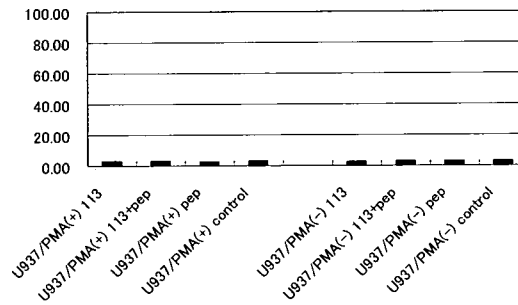


図6 S100A8/9level

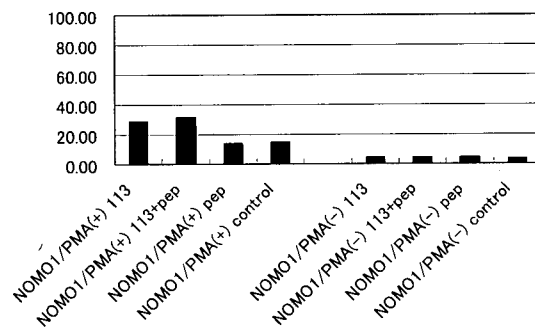
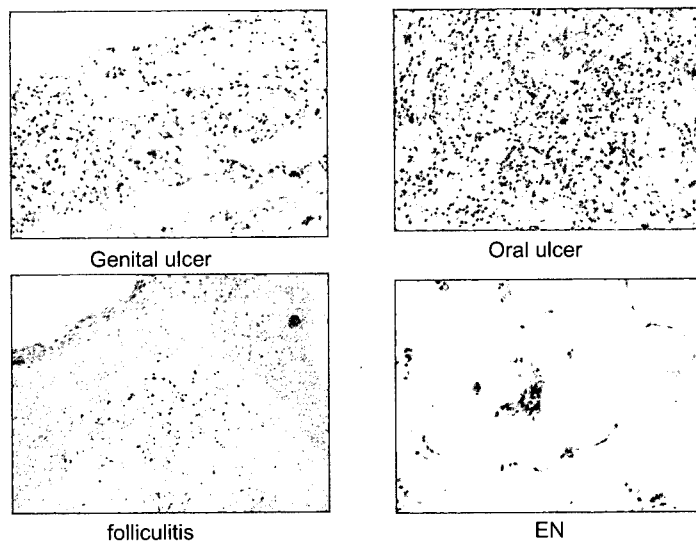


図7 S100A9 免疫染色



ペーチェット病におけるフィコリン血中濃度に関する研究

分担研究者 中村晃一郎 (福島県立医科大学皮膚科学教室)
研究協力者 加藤 保信 (福島県立医科大学皮膚科学教室)
金子 史男 (総合南東北病院免疫アレルギー疾患研究所)
遠藤 雄一 (福島県立医科大学免疫学教室)
藤田 禎三 (福島県立医科大学免疫学教室)

研究要旨

ペーチェット病 (BD) 患者では連鎖球菌に対する顕著な過敏反応を認め、BD の患者の口腔内で *Streptococcus. sanguinis* が有意に増加していることから、BD とレンサ球菌との関連性が論じられている。我々はこれまで BD 患者の一部に ficolin-2 遺伝子多型頻度の増加を報告している。今回、細菌の細胞壁成分に結合し、補体活性化経路の1つであるレクチン経路に関与する分子である ficolin-2 に着目し、ELISA 法を確立し、ficolin-2 の血清濃度を測定し検討した。その結果、BD 患者における ficolin-2 の血清中濃度と健常人では有意差は認めないものの、BD では平均 $10.4 \mu\text{g/ml}$ 、健常人では平均 $13.7 \mu\text{g/ml}$ であり、BD で若干の低下傾向を認めた。以上の結果は、BD におけるレクチン経路の関与の可能性を示唆している所見と考えられた。

A. 研究目的

ペーチェット病 (BD) の患者の多くは口腔内衛生状態が悪く、歯肉炎などの感染症を有し、連鎖球菌に対して異常に強い過敏反応を有することが報告されている。また、BD の患者の口腔内には *Streptococcus. sanguinis* が有意に増加しており、いっぽう健常人の口腔内にはほとんど検出されないことから、BD と連鎖球菌の関連性が論じられている。我々は細菌の細胞壁成分に結合し、補体活性化経路の1つであるレクチン経路で病原微生物を認識する分子として働いている ficolin (ficolin-2) に着目し、両者の関連性につき検討した。

B. 研究方法

ficolin-2 に対するモノクローナル抗体を用いてサンドイッチ ELISA 法を確立した。BD 患者 28 名、健常人 (HC) 30 名、アトピー性皮膚炎 (AD) 患者 22 名について ELISA 法にて血清 ficolin-2 濃度を検討した。

(倫理面への配慮)

使用した血清はあらかじめ患者同意の上保存されているものである。

C. 研究結果

BD 患者の血清 ficolin-2 濃度は健常人と比較して、有意差は認めなかった。BD では平均 $10.4 \mu\text{g/ml}$ であり、HC で平均 $13.7 \mu\text{g/ml}$ であり、BD で低い傾向を認めた。AD 患者においては平均 $10.4 \mu\text{g/ml}$ であった (図 1)。

次に BD 患者における血清 ficolin-2 濃度と 1 時間赤沈値、CRP、白血球数の相関を検討した。これらとの間には有意な相関を認めなかった。

さらに BD 患者における ficolin-2 の血清中濃度を HLA-B51 の陽性・陰性群、採血時点での口腔内アフタの有無、外陰部潰瘍を除く皮膚症状の有無、眼症状の有無、外陰部潰瘍の有無について比較検討した。

それぞれ HLA-B51 陽性群、口腔内アフタ無し群、外陰部潰瘍を除く皮膚症状有群、眼症状無群、外陰部潰瘍無の群で、血清 ficolin-2 は若干低値の傾向を認めたが、いずれも有意差は認められなかった (図 2~6)。

D. 考察

BD 患者における血清 ficolin-2 の濃度は健常人

HCに比し、有意な差は認めないものの、若干低値の傾向を示した。これまで我々は、BD患者のHLA-B51陽性群が陰性群に比べてficolin-2遺伝子多型頻度（-557A > G, -64A > C）が増加することを報告し、遺伝子解析からみたficolin-2の関与を報告してきた。海外施設の報告例でレクチンの一種であるMannose-binding lectin(MBL)がHCに比較し有意にBD患者で低値であり、さらに重症度との関連性についても論じられている。今回我々が検討した同じレクチンに属するficolin-2の結果もBDにおけるレクチン経路の関与の可能性を示唆するものと考えられた。また血清ficolin-2濃度は、外陰部潰瘍を除く皮膚症状有群で若干低値の傾向を認めた。先の報告で血清MBL値が低値を示す男性群では血管病変を有する割合が高い傾向が報告されており、BDにおけるレクチンの皮膚症状、血管病変の関与の可能性を示唆するものと考えられた。

E. 結 論

BD患者における血清ficolin-2濃度はHCに比し低下傾向を示した。この結果はBDにおけるレクチンの関与の可能性を示唆しており他のレクチンも含めてさらなる検討が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Chen X, Katoh Y, Nakamura K, Oyama N, Kaneko F, Endo Y, Fujita T, Nishida T, Mizuki N. Single nucleotide polymorphisms of Ficolin 2 gene in Behcet's disease. *J Dermatol Sci.* 43(3): 201-5, 2006.

Yanagihori H, Oyama N, Nakamura K, Mizuki N, Oguma K, Kaneko F. Role of IL-12B promoter polymorphism in Adamantiades-Behcet's disease susceptibility: An involvement of Th1 immunoreactivity against Streptococcus Sanguinis antigen. *J Invest Dermatol.* 126(7): 1534-40. 2006.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. Serum Ficolin-2 levels among BD, HC and AD patients

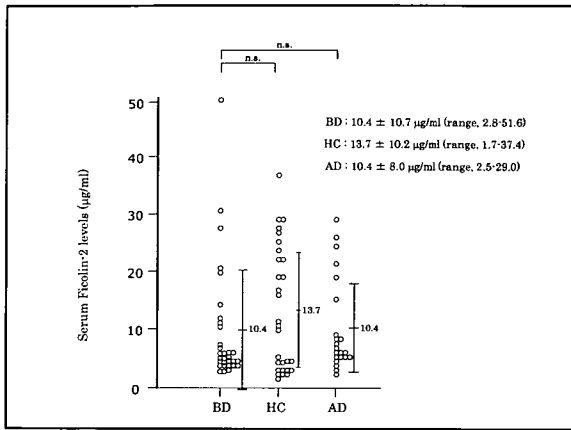


図4. Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without cutaneous involvement

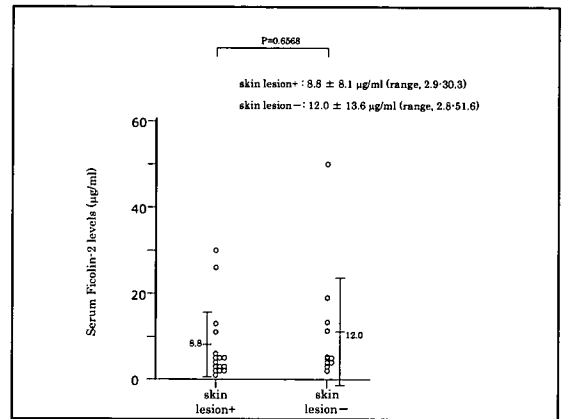


図2. Comparison of serum Ficolin-2 levels between HLA-B51 positive and HLA-B51 negative groups in BD patients

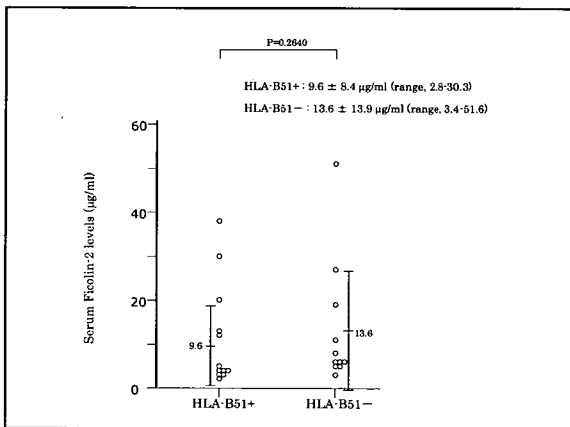


図5. Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without uveitis

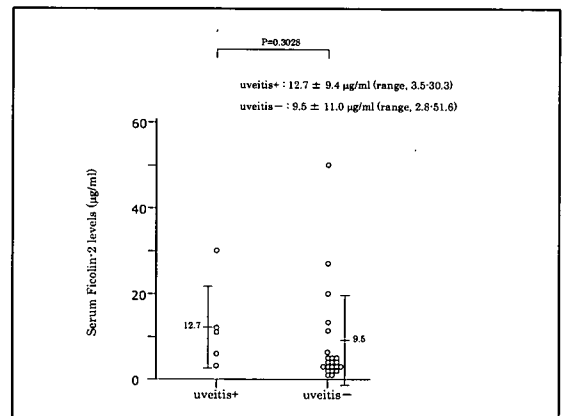


図3. Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without mucosal aphtha

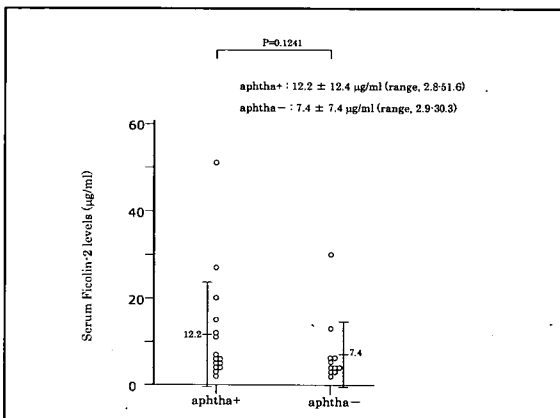
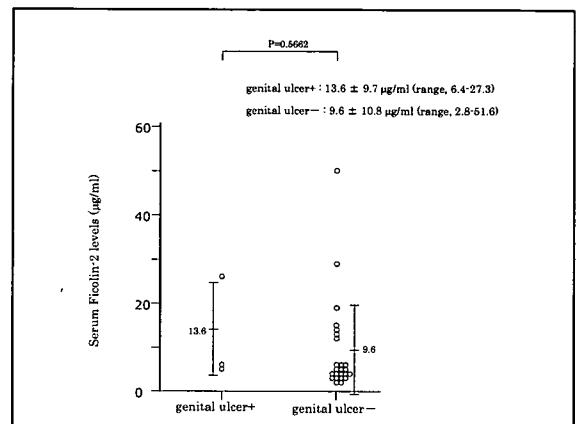


図6. Comparison of serum Ficolin-2 levels between BD patients with or without genital ulcer



ベーチェット病における GRO α の検討に関する研究

分担研究者 山本 俊幸 (福島県立医科大学皮膚科学教室)

研究協力者 加藤 保信 (福島県立医科大学皮膚科学教室)

金子 史男 (財団法人脳神経疾患研究所附属皮膚・免疫・アレルギー疾患研究所)

研究要旨

GRO α は、単球、ケラチノサイトなどから産生される白血球走化性因子である。我々はベーチェット病 (BD) 患者における血清 GRO α 濃度を測定し比較検討した。BD 患者 (n=58) における血清 GRO α の濃度は健常人 (n=30) に比較し有意に高値であり、さらに active stage において inactive stage より高値を示した。GRO α 高値を示した群は、結節性紅斑を有する群に多く見られた。以上より GRO α は BD の活動性を反映するマーカーとなりうることを示唆された。

A. 研究目的

GRO α (CXCL1) は、白血球走化性因子であり、単球、マクロファージ、上皮細胞、線維芽細胞、血管内皮細胞などから産生される。さらに IL-1 や TNF α , LPS 刺激により単球、関節滑膜細胞、皮膚線維芽細胞、眼球毛様体上皮細胞での GRO α の発現の亢進が報告されている。今回我々は BD における GRO α の関与について検討するため、GRO α の血清中の濃度を測定し検討した。

B. 研究方法

ベーチェット病 (BD) 患者 58 名、健常人 30 名、掌蹠膿疱症 5 名における血清中 GRO α , IL-8 濃度を ELISA にて測定した。

(倫理面への配慮)

使用した血清はあらかじめ患者同意の上保存されているものである。

C. 研究結果

GRO α 濃度は BD 患者において 121.2 ± 78.6 pg/ml と健常人 87.0 ± 33.8 pg/ml に対し有意に高値であった ($p < 0.05$) (図 1)。また BD の活動性で比較したところ active BD (n=16) において inactive BD (n=42), HC (n=30) それぞれと比較して有意に高値を示した ($p < 0.01$) (図 2)。

次に GRO α の濃度と BD の病勢の指標として白血球数及び CRP それぞれとの関連を検討した。そ

れぞれとの中程度の相関が見られ (図 3, 図 4), IL-8 と白血球数及び CRP の相関に比べて高い相関を示した。

次に BD 患者において GRO α 高値群と低値群に分け、GRO α の濃度の値と BD の各症状の有症状率を検討したところ、結節性紅斑において有意 ($p = 0.0034$) に高い有症状率 (高値群 38.5% : 低値群 6.7%) を示した (図 5)。

D. 考察

GRO α は IL-8 と同様に好中球の走化性をもつが、今回の我々の検討では GRO α は BD の病勢と関連があることが裏付けられた。またその濃度の高低による有症状の検討から、とくに結節性紅斑の病態との深い関連性が推察されたが、これについては今後のさらなる検討が必要である。

E. 結論

GRO α は BD 患者群で健常人に比較して有意に高値を示し、さらに病勢を反映していた。臨床症状との関連性においてはとくに結節性紅斑との病態の関連が示唆された。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし.

2. 学会発表

福島医学会第410回学術研究集会

H. 知的財産権の出願, 登録状況

特記事項なし.

図3. BDにおける血清 GRO α 濃度と白血球数の相関

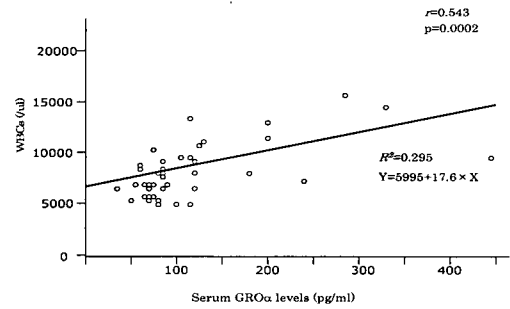


図1. BD (n=58), HC (n=30), PPP (n=5) における GRO α の濃度

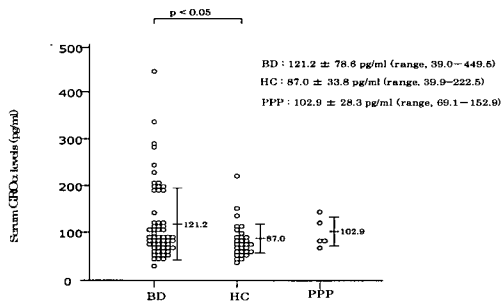


図4. BDにおける血清 GRO α 濃度とCRPの相関

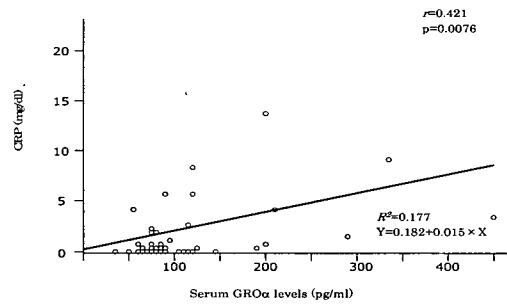


図2. active BD (n=16), inactive BD (n=42名), HC (n=30) における GRO α の濃度

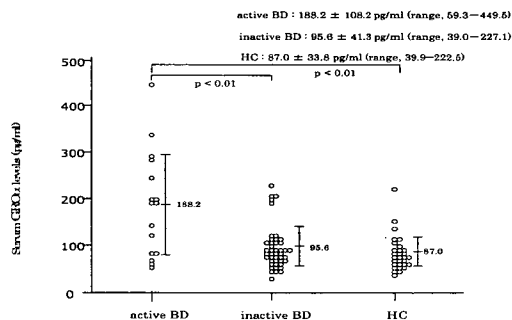


表1. GRO α 濃度によるベーチェット病各症状の有症状率

症状	高値群(>180 pg/ml)	低値群(<180 pg/ml)	p
アフタ性口内炎	8/13 (61.5%)	15/45 (33.3%)	0.0671
ぶどう膜炎	0/13 (0%)	2/45 (4.4%)	0.4392
外陰部潰瘍	3/13 (23.1%)	4/45 (8.9%)	0.1667
毛嚢炎様皮疹	5/13 (38.5%)	7/45 (15.6%)	0.0725
結節性紅斑	5/13 (38.5%)	3/45 (6.7%)	0.0034
血栓性静脈炎	0/13 (0%)	2/45 (4.4%)	0.4392
関節炎	2/13 (15.4%)	5/45 (11.1%)	0.6770

ベーチェット病における toll like receptor 9 遺伝子変異・多型に関する研究

分担研究者 小林 浩子 (福島県立医科大学医学部内科学第二講座)
佐藤由紀夫 (福島県立医科大学医学部内科学第二講座)
研究協力者 坂本 夏美 (福島県立医科大学医学部内科学第二講座)

研究要旨

ベーチェット病症例の末梢血単核球は, toll like receptor (TLR) 9リガンド刺激に対する反応性が高かったことから, TLR の遺伝子多型と疾患感受性との関連について検討した. TLR9遺伝子上に5個のSNPを検出し, そのうちアレル頻度が10%以上のものは3つ (-1486T/ C, 1174A/ G, 2848G/ A)であった. 健常人と比較し, ベーチェット病症例ではゲノタイプ -1486 CCと1174 GGが有意に多く認められた. 2848を含めた3つのSNPのディプロタイプ解析では, 健常人と比べてベーチェット病症例でC-G-A/C-G-Aのホモタイプの組み合わせが多く認められた. ルシフェラーゼアッセイでは -1486 Cかつ1174 Gの組み合わせでルシフェラーゼ活性が高い傾向が認められた. ベーチェット病においては, これらの多型がTLR9の発現や機能に影響を与えている可能性が示唆された.

A. 研究目的

我々の以前の研究から, ベーチェット病 (BD) では toll like receptor (TLR) 9のリガンドに対する反応性が高いことが示唆された. 本研究ではベーチェット病におけるTLRの遺伝子多型と疾患感受性との関連について検討することを目的とした.

B. 研究方法

健常人およびBD患者より採取した末梢血からゲノムDNAを抽出し, ダイレクトシーケンス法にて遺伝子多型を検出した. 各遺伝子多型のゲノタイプをもとにEMアルゴリズムを用いてハプロタイプおよびディプロタイプを推定した. また, レポーターアッセイを行い, 多型の有無によって機能的な違いが見られるかどうかを検討した. 疾患コントロールとして関節リウマチ (RA) 症例を用いた.

(倫理面への配慮)

十分なインフォームドコンセントの上同意を得られた場合検体を提供していただき, 検体および情報の取り扱いについては当施設倫理委員会の定める規定に従った.

C. 研究結果

TLR9遺伝子上に5個のSNPを検出し (図1), そのうちアレル頻度が10%以上のものは3つ (-1486T/ C, 1174A/ G, 2848G/ A)であった (図2).

ゲノタイプを解析したところ, BDでは3つのSNPにおいてそれぞれCC, GG, AAのhomoが多く, 健常人ではCT, GA, AGのheteroが多く, -1486と1174で有意差を認めた (図3).

ハプロタイプの解析ではBD, RA, 健常人のいずれもCGAの組み合わせが最も多く, 次いでTAGが多く認められた. BD, RAでは組み合わせが2通りに限られ, 強い連鎖不平衡を示していた. BD, RAではCGAが多い傾向が認められたものの, 有意差はなかった (図4).

-1486, 1174に2848を含めた3つのSNPのディプロタイプ解析では, 健常人と比べてベーチェット病症例でC-G-A/C-G-Aのホモタイプの組み合わせが多く認められた (図5).

-1486と1174のSNPを含んだベクターを作成し (図6), ルシフェラーゼアッセイを行ったところ, Fragment IIIで健常人のハプロタイプと比べてBDのハプロタイプでルシフェラーゼ活性が高い傾向が認められた (図7).

D. 考 察

BDにおいてTLR9のSNPがTLR9の発現に影響を与えている可能性が示唆された。しかし、これらのSNPは強い連鎖不平衡の状態にあることから、TLR9のSNPと連鎖している他の疾患感受性SNPの存在する可能性も考えられた。

E. 結 論

TLR9のSNPはベーチェット病の疾患感受性因子あるいは疾患関連マーカーとなりうる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Abe K, Ohira H, Kobayashi H, Rai T, Saito H, Takahashi A, Sato Y. Role of CpG ODN in concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Fukushima J Med Sci* 2005(51)41-49.
2. Hikichi T, Kobayashi H, Oyama H, Yamamoto G, Watanabe H, Irisawa A, Obara K, Sato Y. Effectiveness of intragastric immunization with protein and oligodeoxynucleotides containing a CpG motif for inducing a gastrointestinal mucosal immune response in mice. *Fukushima J Med Sci* 2005(51)19-31.
3. Kanazawa N, Okafuji I, Kambe N, Nishikomori R, Nakata-Hizume M, Nagai S, Fuji A, Yuasa T, Manki A, Sakurai Y, Nakajima M, Kobayashi H, Fujiwara I, Tsutsumi H, Utani A, Nishigori C, Heike T, Nakahata T, Miyachi Y. Early-onset sarcoidosis and CARD15 mutations with constitutive nuclear factor- κ B activation: common genetic etiology with Blau syndrome. *Blood* 2005(105)1195-1197.
4. Watanabe H, Noguchi E, Shio K, Iwadate H, Kobayashi H, Ohira H. Usefulness of complement split product, Bb, as a clinical marker for disease activity of lupus nephritis. *Fukushima J Med Sci* 2006(52)103-109.
5. 小林浩子, 佐藤由紀夫. TLR9を標的とした

実験的関節炎の抑制. *臨床免疫* 2005(44)276-280.

6. 小林浩子, 佐藤由紀夫. CpGモチーフによるTh1/Th2反応の制御. *Surgery Frontier* 2005(12)383-385.
7. 小林浩子, 佐藤由紀夫. 遺伝子診療学-遺伝子診断の進歩と遺伝子治療の展望-遺伝子治療-現状と展望-膠原病・アレルギー疾患に対する遺伝子治療-関節リウマチ. *日本臨床* 2005(63, suppl 12)655-658.
8. Hoshi N, Watanabe H, Kobayashi H, Sekine H, Hoshi N, Sugino T, Suzuki T, Sato Y, Ohira H. Inhibitory oligodeoxynucleotide improves glomerulonephritis and prolongs survival in MRL-lpr/lpr mice. *Fukushima J Med Sci* 2007(53)70-84.
9. Abe K, Ohira H, Kobayashi H, Saito H, Takahashi A, Rai T, Kanno Y, Monoe K, Watanabe H, Irisawa A, Sato Y. Breakthrough of immune self-tolerance to calreticulin induced by CpG-oligodeoxynucleotides as adjuvant. *Fukushima J Med Sci* 2007(53)85-94.

2. 学会発表

1. Kobayashi, H Iwadate H, Hoshi N, Suzuki, E Sasajima T, Sekine H, Watanabe H, Sato Y. Synthesized oligodeoxynucleotides including methylated G suppresses immunological responses induced by CpG motif and murine collagen-induced arthritis via toll like receptor 9. American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting. November, 2005.
2. Hoshi N, Watanabe H, Kobayashi H, Sato Y. Inhibitory oligodeoxynucleotide inhibits the progression of autoimmune nephritis in the lupus prone MRL-lpr/lpr mice. American College of Rheumatology Annual Scientific Meeting. November, 2005.

H. 知的財産権の出願, 登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. TLR9遺伝子の構造を SNP の位置

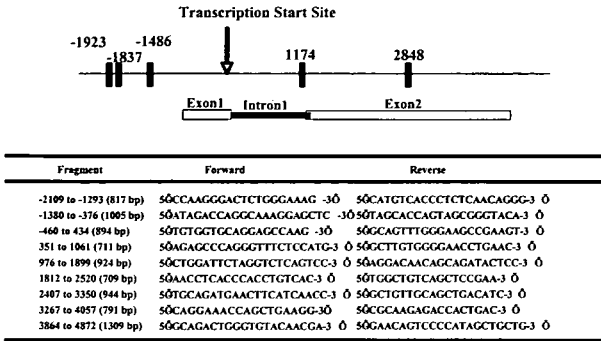


図2. TLR9の SNP とアリル頻度

Position	Allele	BD N=39	Control N=43	RA N=36	dbSNP	JSNP
-1923	C/A	0.974 / 0.026	0.965 / 0.035	n.d.	0.984 / 0.016	n.d.
-1837	C/T	0.923 / 0.077	0.942 / 0.058	n.d.	n.d.	n.d.
-1486	T/C	0.434 / 0.564	0.477 / 0.523	0.431 / 0.569	0.627 / 0.373	n.d.
1174	A/G	0.434 / 0.564	0.488 / 0.512	0.431 / 0.569	0.436 / 0.564	0.517 / 0.483
2848	G/A	0.434 / 0.564	0.523 / 0.477	0.431 / 0.569	0.564 / 0.436	0.517 / 0.483

図3. Genotype 解析結果

Polymorphisms	Genotype	BD N = 39	controls N = 43	RA N = 36
-1486 T/C	TT	10 (25.6%)*	7 (16.3%)*	8 (22.2%)
	TC	14 (35.9%)*	27 (62.8%)*	15 (41.7%)
	CC	15 (38.5%)*	9 (20.9%)*	13 (36.1%)
1174 A/G	AA	10 (25.6%)*	7 (16.3%)*	8 (22.2%)
	AG	14 (35.9%)*	28 (65.1%)*	15 (41.7%)
	GG	15 (38.5%)*	8 (18.6%)*	13 (36.1%)
2848 G/A	GG	10 (25.6%)	10 (23.4%)	8 (22.2%)
	GA	14 (35.9%)	25 (58.1%)	15 (41.7%)
	AA	15 (38.5%)	8 (18.6%)	13 (36.1%)

*P < 0.05

図4. Haplotype 解析結果

Haplotype	BD N = 78	controls N = 86	RA N = 72
-1486 1174 2848			
T A G	34 (43.6%)	41 (47.7%)	31 (43.1%)
C G A	44 (56.4%)	41 (47.7%)	41 (56.9%)
C A G	0	3 (3.5%)	0
C G G	0	1 (1.1%)	0

図5. Diplotype 解析結果

Haplotype 1	Haplotype 2	BD N = 39	controls N = 43	RA N = 36
-1486 1174 2848	-1486 1174 2848			
T A G	T A G	10 (25.6%)*	7 (16.3%)*	8 (22.2%)
T A G	C G A	14 (35.9%)*	24 (54.5%)*	15 (41.7%)
C G A	C G A	15 (38.5%)*	8 (18.6%)*	13 (36.1%)
T A G	C A G	0*	3 (6.1%)*	0
C G A	C G G	0*	1 (3.0%)*	0

*P < 0.05

図6. ルシフェラーゼアッセイ用ベクター

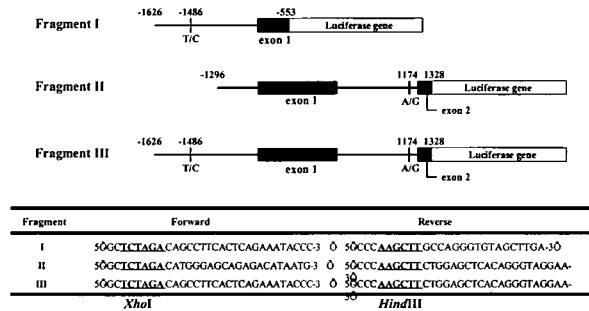
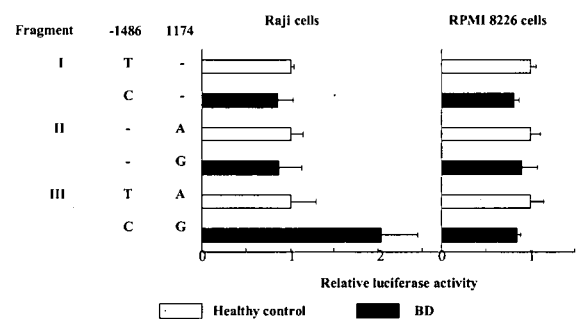


図7. ルシフェラーゼアッセイ結果



眼病変に関する研究

ケモカイン受容体 (CXCR3, CCR5) の実験的ぶどう膜炎における役割

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 藤村 茂人 (東京大学医学部附属病院眼科)
蕪城 俊克 (東京大学医学部附属病院眼科)
灰野 誠 (東京大学医学部分子予防医学)
吉田 淳 (帝京大学附属病院眼科)
藤野雄次郎 (東京厚生年金病院眼科)
沼賀 二郎 (東京都老人医療センター眼科)

研究要旨

【目的】 マウス実験的ぶどう膜炎 (以下 EAU) における Th1 特異的ケモカインレセプター CXCR3, CCR5 の果たす機能を明らかにする。

【方法】 ヒト IRBP ペプチド (hIRBP-p) 200 μ g を正常 C57BL/6 マウス (WT), および CXCR3 ノックアウトマウス (CXCR3KO), および CXCR3 と CCR5 のダブルノックアウトマウス (DKO) に免疫し, EAU の重症度, ペプチドに対する反応性を検討した。

【結果】 EAU は WT に比して CXCR3KO マウス, DKO マウスで有意に高度であった。リンパ球増殖試験では, CXCR3KO マウス, DKO マウスで WT に比べ増殖が強かった。サイトカイン産生試験でも, CXCR3KO マウスで脾細胞の IL-6 が, DKO マウス脾細胞で, IL-6, TNF- α , IFN- γ がより高値であった。また, DKO の眼内浸潤顆粒球数が WT より有意に増加していた。

【結論】 CXCR3 や CCR5 を介した Th1 細胞へのシグナルが阻害され, 過剰な代償機転により病態を悪化させる可能性を想定した。

A. 目的

マウスの実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (EAU) 発症において, Th1 細胞とその遊走に関わるケモカインは重要な役割を担っていると考えられている。CXCR3 や CCR5 の役割を明らかにすることを目的に, ノックアウトマウスを使った実験を行った。

B. 方法

C57BL/6 マウス, 8 週齢, 雌, wild type (WT) と CXCR3KO, DKO マウスを, ヒト IRBP peptide を結核菌毒素を添加した完全アジュバントと混合し, 1 匹あたり peptide を 200 μ g, 頸部皮下に免疫した。同時に, 百日咳菌懸濁液 (和光純薬) 0.1ml を腹腔内投与した。day22 に眼底検査にて炎症の度合いを評価した。更に, 病理組織検査用に眼球を摘出し, リンパ球増殖試験とリンパ球サイ

トカイン産生試験のために, 頸部リンパ節と脾臓を摘出した。

C. 結果

免疫後 22 日目, WT の clinical score は平均 0.88 \pm 1.33 であったのに対し, CXCR3KO では平均 2.19 \pm 1.55 であり, CXCR3KO で有意に高い結果であった。WT の histopathological score は平均 0.79 \pm 1.10 であったのに対し, CXCR3KO では平均 2.00 \pm 1.52 であった。

リンパ球増殖試験 (脾臓) では, CXCR3KO で WT より増殖傾向が強い傾向が認められた。

脾細胞, 頸部リンパ節細胞のサイトカイン産生 (IL-4, IL-10) は, 脾細胞と頸部リンパ節細胞いずれにおいても, WT と CXCR3KO の間に有意差を認めなかった。一方 IL-6 は, 脾細胞において CXCR3KO で産生が高い傾向が見られた。pro-inflammatory サイトカインである TNF- α は, 有

意差を認めなかった。また、Th1系サイトカインである IFN- γ もほぼ有意差を認めなかった。

免疫後22日目における clinical score を WT と DKO で比較した。WT の clinical score は平均 0.85 ± 0.97 であったのに対し、DKO では平均 2.94 ± 1.56 であり、DKO で有意に高い結果であった。

22日目の WT の histopathological score は平均 0.88 ± 1.23 であったのに対し、DKO では平均 2.65 ± 1.80 であった ($p < 0.01$, Mann-Whitney's U-test)。

リンパ球増殖試験 (脾臓) では、IRBP-peptide 刺激下において DKO で WT より増殖傾向が強い傾向が認められた。

Th2細胞と関連する IL-4は、脾細胞と頸部リンパ節細胞いずれにおいても非常に低値であり、WT と DKO の間に有意差を認めなかった。IL-6, TNF- α , IFN- γ も、脾細胞において DKO で有意に産生が高かった。

D. 考 察

何故これらのノックアウトマウスで EAU がより高度となるのか、この理由を明確に説明できる実験結果は得られていない。ただし、脾臓と頸部リンパ節細胞におけるリンパ球増殖試験において、DKO マウスで WT より高い増殖 (傾向差) を示したことより、DKO で脾臓やリンパ節における IRBP 特異的リンパ球が炎症局所やその付属リンパ節へ遊走できないために脾臓・リンパ節に滞留してしまう可能性が考えられた。これらが何らかの形で眼内への顆粒球浸潤に関連し、Th1リンパ球の機能障害を代償している可能性が考えられた。

E. 結 論

WT に比して CXCR3KO や DKO で双方ともに重症化が認められた。脾細胞のリンパ球増殖試験では、CXCR3KO マウスで有意に増殖が強い結果であった DKO マウスで増殖が強い傾向であった。サイトカイン産生試験では、脾細胞の IL-6が、CXCR3KO マウスでより高値の傾向にあった。DKO マウスの脾細胞で、IL-6, TNF- α , IFN- γ が、より高値の傾向にあった。また、DKO の眼内浸潤顆粒球数が WT より有意に増加していた。

F. 健康危険情報

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ベーチェット病の長期観察例における臨床像に関する研究

分担研究者 川島 秀俊 (さいたま赤十字病院眼科)
研究協力者 蕪城 俊克 (東京大学医学部附属病院眼科)
荒木 章之 (東京大学医学部附属病院眼科)
藤村 茂人 (東京大学医学部附属病院眼科)
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

【緒言】ベーチェット病患者では発症後、時間が経過するに連れて多くの場合眼発作頻度が減少するが、発作回数を計時的に調べた報告は少ない。今回、10年以上経過観察のできたベーチェット病患者のベーチェット病患者の矯正視力、眼発作回数の発症後経年変化について検討した。

【方法】1980年から1996年に東大病院眼科を初診し、10年以上経過観察が可能であった100例192眼（男性81例、女性19例、平均経過観察期間 16.9 ± 4.6 年）について患者背景、治療内容、初診時・最終観察時の非眼発作時矯正視力、患者背景と視力予後の関連性、視力低下の原因、手術歴について調べた。年間眼発作回数では、対象を発症後一年以内初診症例とさらに絞り込んだ（男性31例、女性8例、初診時平均年齢 37.4 ± 10.0 才、平均経過観察期間 16.6 ± 4.8 年）。

【結果】発症1年目、5年目、10年目における平均眼発作回数はそれぞれ 7.6 ± 4.2 回、 4.2 ± 3.6 回、 2.1 ± 2.6 回であった。発症後10年以上経過しても眼発作のみられた症例は18例（47%）であった。矯正視力0.1未満の眼は、初診時には22%、最終観察時には44%であった。最終視力予後不良に関連する因子としては、男性であること、初診時期が古いことがあげられた。視力低下の原因としては黄斑変性、視神経萎縮、網脈絡膜萎縮の順に多かった。

【結論】10年以上経過しても眼発作を起こす症例が5割弱あり、長期の経過観察の必要な患者も数多く存在する事が確認されたが、全体としては以前と比較すると、長期観察患者の最終視力予後はかなり改善していると考えられた。

A. 研究目的

ベーチェット病の視力低下は、通常長年に渡って多数回の眼発作を繰り返すうちに徐々に不可逆的な視力低下となる場合が多い。多数症例での検討は殆ど行われていないので、近年のベーチェット病の眼科的臨床像と長期（10年以上）の視力予後を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

対象は、1980年～1996年に東京大学医学部附属病院眼科を初診したベーチェット病患者236例中、10年以上経過観察出来た100例（男性81例、女性19例）。対象症例の初診時年齢は平均 39.1 ± 10.8

歳、平均経過観察期間 16.9 ± 4.6 年であった。眼発作の検討では、眼症状発症早期（1年以内）に当院を初診した患者39例（男性31例、女性8例、平均 37.4 ± 10.0 才、平均経過観察期間 16.6 ± 4.8 年）と対象をさらに絞り込んだ。

検討方法は、レトロスペクティブに、患者背景（初診時年齢、性別、病型、初診時期、HLA-B51の有無）、治療内容、初診時・最終観察時の非眼発作時矯正視力、患者背景と視力予後の関連性、視力低下の原因および手術歴、治療歴、視力低下の原因を調査した。

C. 研究結果

今回検討したベーチェット病患者100例の患者

背景は、完全型ベーチェット病が43例、不全型が57例であった。また、ぶどう膜炎が両眼性の症例は92例、片眼性が8例であった。ぶどう膜炎の病型は、眼底に炎症が及ぶ網脈絡膜炎型85例に対して、眼底に炎症が及ばない虹彩毛様体炎型は15例であった。HLA-B51についてはデータのあった48例中、陽性22例、陰性26例であった。また初診時期については、1980～1989年初診が64例123眼、1990～1996年初診が36例69眼であった。

年間平均眼発作回数は、1眼あたり1年目で 4.1 ± 3.1 回、2年目で 2.9 ± 2.3 回、4年目で 2.0 ± 1.9 回、10年目で 1.2 ± 1.8 回、13年目で 0.54 ± 1.05 回であった。眼症発症後11年目以降に眼発作が1回以上起きた患者の数は、21例(54%)、33眼(45%)も存在した(図1)。

さらに視力低下の原因について調査した。今回、対象患者39例75眼のうち、最終矯正視力が0.7以下である29例51眼(68%)を視力低下ありとした。その結果、視力低下の原因の内訳は、黄斑変性21眼(41%)、網脈絡膜萎縮11眼(22%)、視神経萎縮11眼(22%)、黄斑前膜7眼(14%)、白内障、瞳孔閉鎖、眼球癆、眼球摘出、増殖性網膜炎が各1眼(2%)であった。

使用免疫抑制薬で最も多かったのはコルヒチン89例(89%)で、次いでシクロスポリン62例(62%)、プレドニゾロン51例(51%)、シクロホスファミド21例(21%)、タクロリムス5例(5%)、アザチオプリン4例(4%)、インフリキシマブ2例(2%)の順であった。

初診時で矯正視力0.1未満の眼は22%であったのに対し、最終観察時では44%に増加していた。最終視力予後に関連する患者背景の検討を行った。発症時年齢は、30歳以下の患者では、31歳以上の患者よりも有意に視力不良例が多かった。一方、性別では男性で視力予後の悪い患者が多かった。完全型、不全型、および、HLA-B51の有無は視力予後と明らかな関連性はなかった。

次に、初診時期の違いによる視力予後の検討を行った。1980年代初診の64例123眼は、1990年代初診の36例69眼に比べ、有意に視力予後が不良であった。

最終視力に相関する背景因子として男性、初診時期が古いほど視力予後が悪いという結果が推定

された。次に視力低下の原因を調べたところ、黄斑変性36眼、視神経萎縮28眼、網脈絡膜萎縮27眼の順に多い結果であった。

経過観察期間中の手術歴については、白内障手術105眼(55%)、緑内障手術29眼(15%)、網膜硝子体手術4眼(2%)、眼球摘出2眼、白内障再手術2眼(IOL縫着)、強膜内陥縮結術1眼であった。

D. 考 察

今回、11年目以降にも眼発作が起こる症例の割合が半数近くと、予想よりも高い結果となった原因として、今回の検討が経過観察期間の長い(10年以上)症例のみで検討している為、重症例が大学病院に長く通院し続けた故に、悪い結果が出ている可能性も考えられる。

また、非発作時矯正視力については、経過年数と共に下降し、10年目以降も下降し続けていた。個々の症例について検討すると、眼発作が収まっているにもかかわらず、視神経萎縮や網脈絡膜萎縮が進行して非発作時矯正視力が徐々に低下する症例も存在する。発症後10年以上経過しても視力低下が進行する症例があり、その原因は必ずしも眼発作と関連は無く、視神経萎縮や網脈絡膜萎縮の進行が原因であることが判明した。

眼発作抑制やぶどう膜炎の消炎のために使用されていた全身投与薬剤はコルヒチンが最も多く、次いでシクロスポリン、副腎皮質ステロイドの順であった。ステロイドが約50%に使用されていたが、これは眼発作時に短期間使用した症例が多く含まれているためと考える。

初診時・最終観察時の非発作時矯正視力については、矯正視力0.1未満の眼は初診時で22%に対し、最終観察時では44%であった。今回の結果は10年以上経過観察した100例192眼について最終視力が0.1未満の症例は44%であった。患者の背景因子の結果から、男性、初診時期が古いほど視力予後が悪いという結果が推定された。この近年の視力予後改善の理由は不明であるが、1980年代初診患者よりも1990年代初診患者の視力予後が有意によかった、シクロスポリン治療の普及やベーチェット病自体が近年若年化している事が関与しているのではないかと考える。

E. 結 論

ベーチェット病眼症発症後10年以上経過しても眼発作を起こす症例が5割弱にみられ、また10年以上以降も視力低下が進行する事が推察された。今回検討した症例は大学病院の症例である故に重症症例が多く含まれていると思われるが、10年以上の長期にわたる治療及び経過観察の必要な患者が数多く存在する事が確認された。また、長期経過では、眼発作が落ち着いていても視神経萎縮や網脈絡膜萎縮の進行が視力低下の原因となる可能性がある。過去の報告と比べて、近年のベーチェッ

ト病長期観察患者の最終視力予後がかなり改善している。最終視力予後不良に関連する因子としては、男性、初診時期が古い事が挙げられた。視力低下の原因としては黄斑変性、視神経萎縮、網脈絡膜萎縮が多かった。

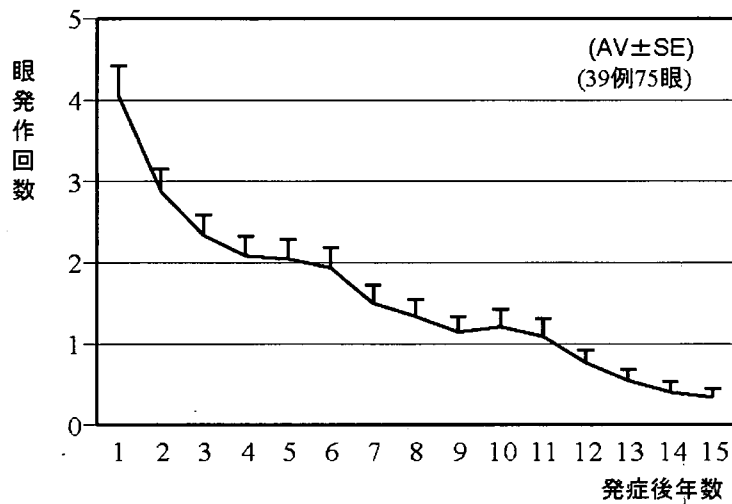
F. 健康危険情報

特記事項なし。

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

図1 年間平均眼発作回数の推移



近年の東京大学眼科におけるぶどう膜炎初診患者の原因別頻度

分担研究者 川島 秀俊 (さいたま赤十字病院眼科)
研究協力者 蕪城 俊克 (東京大学医学部附属病院眼科)
荒木 章之 (東京大学医学部附属病院眼科)
高本 光子 (東京大学医学部附属病院眼科)
沼賀 二郎 (東京都老人医療センター眼科)
玉島 順子 (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

【目的】 東京大学附属病院眼科 (以下、東大眼科) における最近のぶどう膜炎およびベーチェット病症例の動向を知る。

【方法】 目的で2004～6年に当院を初診したぶどう膜炎患者379例 (男性189例, 女性190例) の臨床診断名についてレトロスペクティブに検討を行った。

【結果】 ぶどう膜炎全体の初診時平均年齢は 52.7 ± 17.7 歳 (男性 51.9 ± 18.6 歳, 女性 54.6 ± 16.7 歳) であった。確定診断がついた症例は228例 (60.2%) で、ベーチェット病が21例 (5.5%), サルコイドーシス37例 (9.8%), 原田病が27例 (7.1%), ヘルペスウイルスによる虹彩炎20例 (5.3%), ポスナー・シユロスマン症候群が19例 (5.0%) であった。全ぶどう膜炎初診患者に占めるベーチェット病の割合は1994年以降徐々に減少していた。一方、サルコイドーシスとヘルペス性虹彩炎、DM性虹彩炎、サイトメガロウイルス網膜炎の割合が増加していた。今回の調査でのベーチェット病初診患者21例の初診時平均年齢は 40.7 ± 11.9 歳で、10年前と比べ約4歳高齢化していた。また、ベーチェット病ぶどう膜炎の発症時年齢は、40歳以上に発症する症例が33%を占め、過去の報告と比べ高齢発症者の割合が増加していた。

【結論】 2004-2006年の東大病院眼科でのぶどう膜炎初診患者に占めるベーチェット病の割合は5.5%で、これまでの調査の中で最も低かった。近年、ベーチェット病の新規患者の減少、高齢化が報告されているが、我々の施設でもそれと同様の結果であった。

A. 研究目的

ベーチェット病によるぶどう膜炎は眼炎症発作を繰り返し、時間経過と共に網膜障害、白内障の進行、眼圧上昇などによる視神経萎縮などが原因となって、不可逆的な視力低下を来す。ぶどう膜炎の原因疾患としては、ベーチェット病の他に、サルコイドーシス、原田病などが含まれる。今回、東大眼科における最近のぶどう膜炎の初診患者に占めるベーチェット病の割合を明らかにすること、および最近のベーチェット病ぶどう膜炎の動向を検討することを目的として、2004年から2006年のぶどう膜炎初診患者について調査を行った。

B. 研究方法

対象は2004年～2006年の間に東大病院眼科を初診したぶどう膜炎患者379例 (男性189例, 女性190例) である。検討方法は、2004-2006年の初診患者におけるぶどう膜炎患者について診療録より Retrospective に臨床データを解析し、過去の当院での統計結果と比較した。

検討項目として、ぶどう膜炎患者の年齢分布、病変の解剖学的分類、ぶどう膜炎 (確定診断例、疑診例) の原因別頻度、ベーチェット病患者の初診時年齢、発症時年齢について調査を行った。

C. 研究結果

全ぶどう膜炎初診患者初診時平均年齢は 52.7 ± 17.7 歳（男性 51.9 ± 18.6 歳，女性 54.6 ± 16.7 歳）であり，男女間で有意な年齢差はみられなかった。

解剖学的分類では，汎ぶどう膜炎が46.7%，前部ぶどう膜炎が43.0%，後部ぶどう膜炎が10.3%であった。

総数379例のうち，病名診断がついたものは228例（60.2%）であった（図1）。診断がついた中で最も頻度が高かったのはサルコイドーシス（37例，9.8%）で，次いでフォークト・小柳・原田病（27例，7.1%），ベーチェット病21例（5.5%）の順であった。以下，ヘルペス性虹彩炎（20例，5.3%），ポスナー・シュロスマン症候群（19例，5.0%），HLA-B27陽性急性前部ぶどう膜炎（11例，2.9%），サイトメガロウイルス網膜炎（10例，2.6%），糖尿病性虹彩炎（9例，2.4%），Fuch's 虹彩異色性虹彩毛様体炎（9例，2.4%）が多かった。

ベーチェット病は1990年代前半の時点ではなおぶどう膜炎全体の10%以上を占め第1位であったが，最近の3年間では5.5%，第3位まで減少している。サルコイドーシス，原田病の頻度は1990年以降は大きな変化はみられなかった。一方，近年増加しているぶどう膜炎として，ヘルペス性虹彩炎，DM性虹彩炎，サイトメガロウイルス網膜炎が挙げられる。

東大病院眼科の1年あたりのベーチェット病初診患者数は，1960-1970年代まではベーチェット病患者の初診数は非常に多かったが，1980年ごろからその数が減少し1990年代後半からは1年あたり10名以下の状態が続いている。2004年から2006年の3年間でのベーチェット病ぶどう膜炎の初診患者は21例（男性14例，女性7例）で，虹彩毛様体炎型が3例（14%），網膜ぶどう膜炎型が18例（86%）であった。これらの患者の初診時年齢は男女とも30歳代が最も多く，平均初診時年齢は 40.7 ± 11.9 歳であった。この初診時年齢を10年前の統計（つまり1994-1997年の統計）と比較した。

1994-1997年の統計では，ベーチェット病患者の初診時年齢は20歳代に多く，平均初診時年齢は 36.6 ± 13.5 歳であった。今回の調査では10年前と比べてベーチェット病の初診時年齢が約4歳高齢

化していた。

次に，ベーチェット病初診患者のぶどう膜炎の発症時年齢を検討しました。最近3年間に初診した21例のベーチェット病患者のぶどう膜炎発症時年齢は， 35.5 ± 12.5 歳であった。男性は30歳代，女性は20歳代にピークが見られ，女性の方がやや若い傾向がみられた。このベーチェット病ぶどう膜炎の発症時年齢を1974年以降の当科での統計と比較した。2000年までは明らかな変化はみられなかったが，今回の2004-2006年の統計では40歳以上の高齢発症例の割合が33%を占め，過去の報告と比べて増加していた。近年のベーチェット病初診患者の特徴として，40歳以上の高齢発症例の割合が増えている可能性が考えられた。

D. 考 察

今回調査した2004-2006年の東大眼科での全ぶどう膜炎初診患者の年齢別分布は30歳台と50-60歳代にゆるやかな二峰性の分布を呈していた。これは，サルコイドーシス患者の年齢分布と類似しており，近年サルコイドーシスぶどう膜炎の割合が増加していることを反映していると思われる。過去の報告と比べて，全ぶどう膜炎患者の初診時平均年齢が高齢化しているが，これも比較的若年発症が多いベーチェット病の割合が減少し，比較的高齢発症が多いサルコイドーシスの割合が増加しているためと考える。

一方，今回の調査でのぶどう膜炎初診患者に占めるベーチェット病の割合は5.5%で，これまでの調査の中で最も低い結果であった。ベーチェット病が減少した代わりに，サルコイドーシス，ヘルペス性虹彩炎，DM性虹彩炎，サイトメガロウイルス網膜炎の占める割合が近年増加していた。

今回の調査でのベーチェット病初診患者の初診患者は21例（男性14例，女性7例）であり，その初診時年齢は平均 40.7 ± 11.9 歳で，10年前と比べ約4歳高齢化していた。また，今回の統計ではベーチェット病ぶどう膜炎の発症年齢は，40歳以上に発症する症例が33%を占め，高齢発症者の割合が増加していた。

E. 結 論

全ぶどう膜炎に占めるベーチェット病の割合は

5.5%で、これまでの調査の中で最も低い結果であった。ベーチェット病の割合が減少している一方で、サルコイドーシス、ヘルペス性虹彩炎、DM性虹彩炎、サイトメガロウイルス網膜炎によるぶどう膜炎の割合が近年増加していた。今回の調査でのベーチェット病初診患者の初診時年齢は平均 40.7 ± 11.9 歳で、10年前と比べ約4歳高齢化していた。

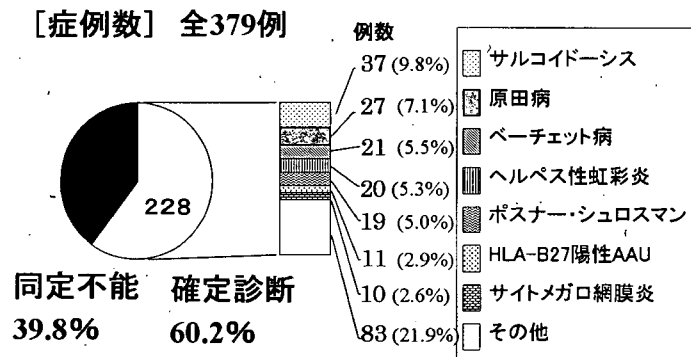
F. 健康危険情報

特記事項なし。

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

図1 東大眼科における疾患別患者 (2004-06年)



実験動物モデルと 新しい治療法の開発