

2008J4021A

厚生労働省研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

ベーチェット病に関する調査研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 石ヶ坪 良明

平成 21 年(2009年) 3月

厚生労働省研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

ベーチェット病に関する調査研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 石ヶ坪 良明

平成 21 年 (2009 年) 3 月

目 次

I 班員名簿	1
--------	---

II 総括研究報告	5
-----------	---

ベーチェット病に関する調査研究班

主任研究者 石ヶ坪 良明

(横浜市立大学大学院医学研究科 病態免疫制御内科学)

III 分担研究報告	31
------------	----

1. ガイドライン作成・疫学統計 (臨床研究分科会) 関連

(1) 診療ガイドライン作成	33
----------------	----

腸管ベーチェット病診療ガイドラインにおけるインフリキシマブ治療の位置づけ

岳野光洋 (横浜市大病態免疫制御内科)、菊地弘敏 (帝京大学内科)、飯塚文瑛 (東京女子医大消化器内科)、松田隆秀 (聖マリアンナ医大総合診療内科)、国崎玲子 (横浜市大付属市民総合医療センター炎症性腸疾患センター)、尾藤誠司 (国立病院機構 東京医療センター臨床研究センター)、石ヶ坪良明 (横浜市大病態免疫制御内科)

神経ベーチェット病の診療ガイドラインの作成に関する研究

廣畑俊成 (北里大学医学部膠原病感染内科)、菊地弘敏 (帝京大学医学部内科)、桑名正隆 (慶応義塾大学医学部内科)、沢田哲治 (東京医科大学リウマチ膠原病内科) 岳野光洋 (横浜市立大学医学部病態免疫制御内科)

神経ベーチェット病の臨床像 (指定発言)

石ヶ坪良明 (横浜市大病態免疫制御内科)、須田昭子、岳野光洋、出口治子 (横浜市大病態免疫制御内科)、馬場泰尚、黒岩義之 (横浜市大神経内科)

血管ベーチェット病に関する臨床調査およびマウスモデルによる研究

新見正則 (帝京大学外科)

「ベーチェット病眼病変の診療ガイドライン」作成に関する研究

大野重昭 (北海道大学大学院炎症眼科)、南場研一、北市伸義 (北海道大学大学院眼科)、水木信久、澁谷悦子 (横浜市立大学眼科)、蕪城俊克、高本光子 (東京大学大学院眼科)、後藤浩、横井克俊、坂本俊哉 (東京医科大学眼科)

ペーチェット病の症状出現パターンと特殊型ペーチェットの分布

黒沢美智子（順天堂大医学部衛生学）、稲葉 裕（実践女子大学生生活科学部）、
石ヶ坪良明（横浜市立大病態免疫制御内科）、永井正規（埼玉医科大学公衆衛生）

ペーチェット病患者の口腔保健とQOLに関する研究：口腔状態に関する臨床的検討

内藤真理子（名古屋大学大学院医学系研究科予防医学／医学推計・判断学）、内藤 徹
（福岡歯科大学総合歯科）、稲垣幸司（愛知学院大学短期大学部歯科衛生学科）、山本弦
太、坂野雅洋、夫馬大介、曾我部（島） 麻子（愛知学院大学歯学部歯周病学講座）、畔
地美紀（大垣女子短期大学歯科衛生科）

韓国人ペーチェット病患者における TLR4 遺伝子の検討

大野重昭（北海道大炎症眼科）、堀江幸弘（北海道大眼科）、目黒明（横浜市大眼科）、
太田正徳（信州大法医学講座）、北市伸義、勝山義彦（信州大薬学部）、竹本裕子、南場
研一、吉田和彦（北海道大眼科）、Yeong Wook Song（ソウル大学内科）、Kyung Sook
Park（Sungshin 女子大学）、Eun Bong Lee（ソウル大学内科）、猪子英俊（東海大学
分子生命科学）、水木信久（横浜市大眼科）

ペーチェット病の発症および重症化抑制におけるブラッシングの有用性

磯貝恵美子（北海道医療大学）、内藤真理子（名古屋大学）、南場研一（北海道大学）、
大野重昭（北海道大学）、蕪城俊克（東京大学）、横田賢治（岡山大学）小態恵二（岡山
大学）、金子史男（福島県立医科大学）、磯貝 浩（札幌医科大学）

2. 病因・病態研究（基礎研究分科会）

HLA-A*26、HLA-B*51 保有によるペーチェット病患者の臨床像及び視力予後の検討

水木信久（横浜市大眼科）、目黒明、澁谷悦子（横浜市大眼科）、西田朋美（聖隷横浜病
院眼科）、太田正徳（信州大学法医学）、勝山義彦（信州大学薬学部）、竹本裕子、南場
研一、大野重昭（北海道大炎症眼科）、岡晃、猪子英俊（東海大学分子生命科学）

ペーチェット病感受性ゲノム領域に位置する *TRIM* 遺伝子群に関する研究

猪子英俊（東海大学医学部分子生命科学）、倉田 里穂、斉藤卓磨、細道 一善、椎名隆、
井ノ上 逸朗（東海大学医学部分子生命科学）

ベーチェット病における疾患感受性候補遺伝子 ROBO1 の SNP 解析

太田正穂(信州大法医学)、目黒明(横浜市大眼科)、勝山義彦(信州大附属病院薬学部)、岡晃(東海大分子生命科学)、南場研一、大野重昭(北大視覚器病学)、水木信久(横浜市大眼科)、猪子英俊(東海大分子生命科学)

ベーチェット病の病態解明に関する研究

中村晃一郎(埼玉医科大学皮膚科)、金子史男(脳神経疾患研究所属皮膚免疫・アレルギー疾患研究所)、水木信久(横浜市大眼科)

(2) 環境因子(細菌・ウィルスなど) 92

ベーチェット病における炎症に関与している細菌抗原に関する研究

小熊恵二、申蓮花(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病原細菌学)、横田憲治(岡山大学保健学科研究科)

熱ショック蛋白誘発ぶどう膜炎モデルの試作

蕪城俊克(東京大学医学部眼科学)、高本光子(東京大学医学部眼科学)、沖永貴美子(関東中央病院眼科)、玉島順子(東京大学医学部眼科学)、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)、川島秀俊(さいたま赤十字病院眼科)

抗菌ステロイド CSA-13 の口腔領域への応用-バイオフィーム阻害活性の検討

磯貝恵美子(北海道医療大学)、磯貝浩(札幌医科大学)、大野重昭(北海道大学)、横田賢治(岡山大学)、小熊恵二(岡山大学)、金子史男(福島県立医科大学)、Savage P. B. (Brigham Young University)

(3) 免疫異常の解析 105

ベーチェット病動物モデルの免疫異常解析と制御法の開発に関する研究

小野江和則(北大遺伝子病制御研究所免疫生物分野)、岩田大樹(北大遺制研免疫生物・北大眼科)、岩渕和也(北大遺制研)、北村瑞、北市伸義、南場研一(北大眼科)、大野重昭(北大院医研究眼科)

実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎に対する抗 TNF- α 抗体硝子体内投与の検討

大野重昭(北海道大)、三浦淑恵、北市伸義、大神一浩(北海道大)

ベーチェット病(BD)の病態における IL-17 産生 T 細胞の役割
桑名正隆 (慶應義塾大学内科)、安岡秀剛 (慶應義塾大学内科)

ベーチェット病における IL-23 及び SMAD2 の発現上昇
鈴木 登 (聖マリアンナ医大免疫学・病害動物学)、清水潤 (聖マリアンナ医大免疫学・
病害動物学)、金子史男 (福島県立医大皮膚科)、金子栄 (島根大医学部皮膚科)

3. その他、症例など 119

小児ベーチェット病の 2 症例
大野重昭 (北海道大学眼科)、海老原昌子、南場研一、北市伸義 (北海道大学眼科)

4. 寄稿文 121

Kaneko F, Oyama N, Yanagihori H, Isogai E, Yokota K, Oguma K
The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behçet's
Disease.
Eur J Dermatol 2008;18(5):489-498

IV 研究成果の刊行に関する一覧表 131

V 班会議プログラム 159

I 班員名簿

ベーチェット病に関する調査研究班

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	石ヶ坪良明	横浜市立大学大学院医学研究科 病態免疫制御内科学	教授
研究分担者	大野 重昭	北海道大学大学院医学研究科医学専攻研究眼科学講座	特任教授
	猪子 英俊	東海大学医学部基礎医学系分子生命科学	教授
	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	教授
	鈴木 登	聖マリアンナ医科大学免疫学・病害動物学	教授
	磯貝恵美子	北海道医療大学歯学部保健衛生学講座	講師
	桑名 正隆	慶應義塾大学医学部内科学	准教授
	水木 信久	横浜市立大学大学院医学研究科視覚器病態学	教授
	小熊 恵二	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科	教授
	太田 正穂	信州大学医学部法医学教室	講師
	廣畑 俊成	北里大学医学部膠原病・感染内科学	教授
	黒沢美智子	順天堂大学医学部衛生学	准教授
	内藤真理子	名古屋大学大学院医学系研究科予防医学/医学推計・判断学	講師
	新見 正則	帝京大学医学部外科	准教授
	蕪城 俊克	東京大学大学院医学系研究科眼科学	講師
岳野 光洋	横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学	准教授	
研究協力者	金子 史男	(財) 脳神経疾患研究所 皮膚免疫・アレルギー疾患研究所	所長
	尾藤 誠司	独立行政法人国立病院機構 東京医療センター 臨床研究センター 政策医療企画研究部 臨床疫学研究室	室長
	沢田 哲治	東京医科大学病院内科学第三講座/リウマチ膠原病内科	准教授/診療科長
	松田 隆秀	聖マリアンナ医科大学 総合診療内科	教授
	後藤 浩	東京医科大学眼科学教室	主任教授
	中村晃一郎	埼玉医科大学皮膚科	教授
	菊地 弘敏	帝京大学医学部内科	助教
事務局		横浜市立大学大学院医学研究科病態免疫制御内科学 〒236-0004 神奈川県横浜市金沢区福浦3-9 TEL : 045-787-2628 FAX : 045-788-8773 E-mail : seclnai@med.yokohama-cu.ac.jp	
経理事務担当	国安 暁子	横浜市立大学 医学・病院運営推進部先端医学研究課 〒236-0004 神奈川県横浜市金沢区福浦3-9 TEL : 045-787-2506 FAX : 045-787-2509 E-mail : kuniyasu@yokohama-cu.ac.jp	係長

II 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

ペーチェット病に関する調査研究

研究代表者 石ヶ坪良明（横浜市立大学病態免疫制御内科）

研究要旨

ペーチェット病(BD)はいまだ原因不明であり、その治療指針も確立していない点が少なくない。本研究班では診療ガイドラインの作成を最重要課題に位置付け、ブドウ膜炎、腸管型、神経型、血管型各病型別に診療ガイドラインの作成を試みている。基本的には Medical Information Network Distribution Service (MINDs)の手法に沿って行うが、エビデンスレベルの高い文献が十分とは言えないことから、日本での臨床実態把握を並行して行った。また、その一助となるよう現在の臨床個人調査票改定案が提案された。

病因・病態の解析には、これまでの研究班での成果をもとに、各研究分担者の研究を継続した。遺伝素因に関しては、マイクロアレイを用いたゲノムワイドの解析結果で検出された疾患感受性候補遺伝子の標的解析に移行した。昨年までの *TLR4* につき *TRIM*、*ROBO1* などについての解析を開始し、予想されたとおり BD との関連が見出されている。しかしながら、遺伝子産物自体の機能に不明確な点もあり、蛋白レベルの解析も今後必要であろう。また、日本人 BD 患者で明らかにされた感受性遺伝子、*TLR4* 遺伝子について韓国人を対象に検討したが、成績には若干の相違が見られた。このような他人種における検討は今後も国際共同研究として進めていくことで、人種を越えた真の疾患感受性遺伝子の解明につながることを期待される。

環境因子の中では、以前より指摘されている口腔内細菌の病態への関与が口腔衛生との関連からも解析していくべき課題である。本研究では口腔衛生の改善が日本での BD 発症の減少や軽症化の要因になっていることが示唆された一方、BD 患者口腔内より分離された *Streptococcus Sanguinis* 様菌より単離された Histidine-containing phosphocarrier protein (HPr)の IL-8、TNF- α 誘導能が *TLR2*、*4* を介していることが明らかにされ、病態形成に関与している可能性が示された。

BD の自己免疫疾患としての側面を支持する所見として、Th17 細胞の活性化異常についても成績が示された。これらの知見をもとにした、治療標的分子の設定、新規治療開発のためにもモデル動物の開発が期待される。

また、本研究班発の情報発信源として、ホームページを開設した。

A. 研究目的

ペーチェット病（以下、BD）の原因はいまだ不明であり、病型によっては標準的治療も確立されたものがなく、実際の臨床現場では個々の医師の経験に依存せざるを得ないのが現状

である。そのような観点から、本研究班では、特に特殊病型における診療ガイドラインの作成を最重要課題に挙げた。具体的には、これまで取り組んできた腸管型ペーチェット病の診断ガイドライン作成に加え、症例数も少なく治

療法の確立していない他の特殊病型である神経型および血管型 BD についても、本研究班で全国規模の調査を行い、それらの結果を参照にして診療ガイドラインを作成する。また、本疾患の患者の予後に多大な影響を与える病変であるブドウ膜炎に対して、2007年にインフリキシマブが適応拡大となり、眼病変に対する治療法も大きな変換期を迎えている。このような状況を踏まえ、インフリキシマブの有用性の検証とともに BD の眼病変の診療ガイドラインを確立する。

診療ガイドラインの作成と並行して、現状の臨床実態を把握することは極めて重要であり、疫学調査および QOL に関する調査も継続して施行する。

環境因子についても従来の成果をもとに、病態への関与を検討するとともに口腔内衛生、セルフケアといった課題にも取り組む。

病因・病態研究に関しては、従来の研究成果を踏まえて遺伝素因、環境因子（細菌・ウイルス）、免疫異常の側面からさらに解析をすすめる。

遺伝素因に関しては、マイクロサテライト法によるゲノムワイドな疾患感受性遺伝子候補が絞られてきているため、今後、それらの候補遺伝子の SNP 解析を進める。それらの結果をもとに、BD 発症との関連のみならず、病型、予後、治療反応性との関連も解析していく。また、近年、BD に自己炎症症候群としての側面が注目されていることもあり、インフラマゾームを中心とした関連遺伝子の解析も検討する。

環境因子、免疫異常の側面からの病因・病態の研究に関しては、これまでの成果をさらに発展させ治療標的の検討につなげる。その意味ではモデル動物の確立も重要な課題である。

B. 研究方法

1. ガイドライン作成、疫学・統計に関する研究（臨床研究分科会）

1) 診療ガイドラインの作成

診療ガイドラインは基本的には Medical Information Network Distribution Service (MINDs) の手法にのっとり作成する。その概略は、

- ① 臨床上的問題点の抽出
- ② 文献的検索と検索結果に基づき各項目のエビデンスレベルの設定
- ③ ガイドラインステートメントの作成
- ④ 評価と改訂

の各ステップからなる。

腸管ベーチェット病診療ガイドラインに関しては、平成 19 年度 1 月版のステートメント（案）をもとに、診断、評価、治療それぞれの臨床上的問題点をあらためて検討した。

しかしながら、他の特殊病型は症例数が特に少なく、エビデンスレベルの高い文献に乏しいため MINDs の標準的手法をそのまま応用することは難しいとの結論に至った。そこで、個々の臨床実態を可能な限り正確に把握するため、すべての臨床系の研究分担者、研究協力者に横浜市大の倫理委員会で承認された「ベーチェット病の診療ガイドライン作成に向けた臨床調査研究」に参加いただいた上で、各々の病型について臨床調査を並行して施行した。

a. 腸管 BD 診療ガイドラインの作成

研究代表者施設の研究分担者岳野（横浜市大）を中心として、リウマチ系、消化器系の研究分担者・協力者の松田（聖マリアンナ医大）、菊地（帝京大）、飯塚（東京女子医大）等と検討した。

金子班時代に作成した腸管ベーチェット病診療ガイドライン案（平成 19 年 1 月版）の再評価を行うとともに、あらためて MINDs 法に

沿って作業を進めた。この間、腸管病変に対するインフリキシマブの有用性が相次いで報告されたことから、その位置づけを明確にするため、文献、学会報告、アンケート調査による情報収集を行った。

b. 神経 BD 診療ガイドラインの作成

研究分担者の廣畑（北里大）が、臨床系の研究分担者・協力者の所属する施設に配布したアンケートをもとに、過去20年間の入院または外来治療を必要とした神経症状を呈した BD 患者について検討した。

また、研究代表者施設の横浜市大では、附属二病院における神経 BD 患者の臨床像を解析した。

c. 血管 BD 診療ガイドラインの作成

研究分担者の新見（帝京大）を中心として、血管 BD に関する文献検索と、手術に関わる血管外科医への聞き取り調査を行った。また、血管 BD の実態把握のため、厚生労働省で使用されている臨床調査個人票から血管病変に関する記述の見直しを施行した。

d. ブドウ膜炎診療ガイドラインの作成

研究分担者大野（北大）を中心として、眼科系の研究分担者・協力者の水木（横浜市大）、蕪城（東大）、後藤（東京医大）等と検討した。

診療ガイドラインは、インフリキシマブの市販後調査の成績も踏まえ検討した。安全性の検証には、感染症をはじめ全身的な要素も含まれるため関節リウマチなどでインフリキシマブの経験豊富な研究代表者施設からのリウマチ系内科医も数名加わった。

なお、MINDs 法による診療ガイドライン作成に精通した尾藤（国立東京医療センター）は横断的にガイドライン作成グループに参画した。

2) 疫学・統計による解析

研究分担者黒沢（順天堂大）らは、臨床調査個人票をベースとし、患者ごとの主症状の16通りの組み合わせにより病型を分類しそれら

の頻度を分析した。

内藤（名古屋大）らは、BD 患者の口腔内衛生状態を評価し、QOL との関連を解析した。

磯貝（北海道医療大）らは、BD の発症、重症化抑制対策としてのブラッシングの有用性について検討した。

2. 病因・病態研究（基礎研究分科会）

1) 遺伝素因

これまでの研究の流れを継承し、マイクロサテライト法によるゲノムワイドを用いた解析結果から BD と強い相関の認められた遺伝子のうち、特に猪子（東海大）らは *TRIM10*、*TRIM15* など、太田（信州大）らは *ROBO1* などについて SNP による標的解析を行った。

水木（横浜市大）らは、遺伝素因の臨床病型への影響について HLA-A26、HLA-B51 と視力予後との関連を検討した。

大野（北大）らは、日本人 BD 患者の感受性遺伝子として同定されている toll-like receptor (TLR)4 遺伝子については、韓国人を対象とする国際共同研究を行った。

中村（埼玉医大）らは、IL-7 受容体 α 遺伝子プロモーター領域について BD との関連を検討したほか、研究代表者らは、BD との関連が指摘されている自己炎症症候群（家族性地中海熱など）の原因遺伝子について米国 NIH Kastner DL 博士、トルコ Gül A 教授らとの国際共同研究として解析予定である。本年度は BD 患者および健康人の検体の準備および家族性地中海熱の責任遺伝子とされる *MEFV* 遺伝子について検討を進めている。

2) 環境因子

小熊（岡山大）らは、これまでの研究を引き継ぎ、BD 患者口腔内より分離された *Streptococcus sanguinis* 様株の成分から、単球から IL-8、TNF- α 産生を誘導する蛋白を精製、クローニングして全塩基配列を決定し

TLR との関連および細胞内刺激伝達経路を解析した。

磯貝（北海道医療大）らは、抗菌活性を持つカチオン性ステロイド抗菌薬 CSA-13 について *Streptococcus* のバイオフィーム形成阻害活性を検討し、治療薬としての可能性を検討した。

3) 免疫異常の解析

a. 自己免疫異常

近年、自己免疫疾患の発症に Th17 細胞の関与が注目されている。桑名（慶応大）、鈴木（聖マリアンナ大）らは、BD の病態にも自己免疫異常が関与すると考えられることから、末梢血単核細胞、皮膚病変などを検体として、IL-17 産生能、Th17 細胞が発現する IL-23 受容体レベルを ELISA、フローサイトメトリー、real time PCR 法による mRNA 定量、免疫組織染色法を用いて解析した。

b. 自然免疫系の異常

石ヶ坪、岳野（横浜市大）により、BD 患者において TLR4 が過剰発現し、LPS などの刺激により抗炎症蛋白 heme oxygenase (HO)-1 の発現低下を来し BD の炎症病態を形成する可能性が示されたが、今年度は、HO-1 の転写因子である Nrf-2 およびそのレプレッサーである Bach1 について、その発現および活性化の調節機構について TLR4 リガンド (LPS) に対する反応性に重点を置き検討した。

c. 動物実験モデル

小野江（北大）らのこれまでの研究より、実験的ブドウ膜炎の病態形成にオステオポンチンが関与し、抗オステオポンチン受容体抗体やオステオポンチン特異的 siRNA が治療効果を有することが明らかにされている。本年度はその作用機序がさらに詳細に検討された。また、大野（北大）らは、同じモデルを用いて、抗 TNF- α 抗体の硝子体内投与の有効性を検討した。さらに、藤木（東大）らは、BD の自己免

疫異常を誘導する際の自己抗原としての可能性が示唆される熱ショック蛋白 heat shock protein (HSP65)を用いたモデルラット、モデルマウスの作成を試みた。

臨床調査個人票改訂案

複数の研究分担者より、現在の臨床調査個人票では臨床実態の把握が困難との意見が出され、班会議での討論に加え、電子メールなどを利用して活発な意見交換を行い、新規、更新ともに改訂案を作成した。

3. 広報活動

患者および関係者、一般人はもちろん、医師、研究者にも広く情報を提供し、共有する目的で、本研究班事務局でホームページを作成した。

（倫理面への配慮）

臨床調査研究においては、厚生労働省の指導に基づき臨床系の研究分担者、研究協力者のすべての施設が参加する「ペーチェット病の診療ガイドライン作成に向けた臨床調査研究」の研究計画に基づき、各施設で倫理委員会の承認を受け、被検者に研究の主旨を十分理解していただき、同意をいただいた上で実施した。その際、守秘義務の遵守に配慮した。

患者より採血、生検などにより得られた検体を使用する研究においては、それぞれの研究ごとに各施設の倫理委員会の承認を受け、その主旨を十分説明し、文書同意を得たうえで実施した。

動物実験においては綿密な計画に基づき、最小限の動物を用いることとし、実験動物に余分な苦痛を与えないように配慮した。

C. 研究結果およびD. 考察

1. ガイドライン作成、疫学・統計に関する研究（臨床研究分科会）

1) 診療ガイドラインの作成

a. 腸管 BD 診療ガイドラインの作成

金子班時代に作成した腸管ベーチェット病診療ガイドライン案（平成 19 年 1 月版）の再評価の結果、インフリキシマブの位置づけを明確にする必要性が複数の委員から提案された。文献的には、PubMed の検索で、腸管 BD に対するインフリキシマブの有効性について英国、韓国などから散発的に報告があり、日本からも Naganuma らにより 6 症例の報告が認められた。学会報告では米国リウマチ学会に産業医大 Iawata らが 10 例全例の有効例を報告しているほか、国内でも地方会、研究会などにおいて多数報告されていた。これらの症例報告に関する有効性、安全性について検討するため消化器専門医を対象とした予備的アンケートを施行したところ、有効性を支持する意見が大勢を占め、さらに、ステロイド抵抗例に使用できるよう保険適応の拡大を望む意見を多数認めた。

この予備調査結果をもとに、炎症性腸疾患専門医と共同でさらに実態調査を進めることが提言された。

b. 神経 BD 診療ガイドラインの作成

5 施設より 130 症例の調査票を収集し 103 症例の解析可能例（急性型 51 例、慢性型 30 例、22 例は非神経 BD）を検討した結果、BD 全体では男女比はほぼ同数だが、神経 BD 全体としては男性に 2-4 倍多いこと、急性型ではシクロスポリン治療（30%に使用）が誘発因子である、慢性進行型では HLA-B51 と喫煙が炎症の遷延化因子である可能性が指摘された。横浜市大 2 病院での成績も同様の結果が認められた。また、治療では、急性型はステロイドに対する反応が良好だが、慢性進行型の神経機能予後は不良であることが再確認された。

c. 血管 BD 診療ガイドラインの作成

血管 BD に関する文献検索と、手術に関わる血管外科医への聞き取り調査を行った結果、動

脈病変に対する手術は吻合部動脈瘤を高率に合併することが多く、予後不良であることが再認識されたことから、診療ガイドラインには、可能な限り保存的に治療を行うことを明記すべきと思われた。

d. ブドウ膜炎診療ガイドラインの作成

眼科系の研究分担者・協力者からなる小委員会にて調査票を作成し現在解析中である。可能な限り、MINDs の手法に沿って作成する予定であるが、Hatami G らの報告 EULAR recommendations for the management of Behcet's disease. *Ann Rheum Dis* 67: 1656-62, 2008) が提示されているものの、エビデンスレベルの高い報告が少ないため、その点も考慮してガイドラインを作成することが確認された。また、薬物療法のみならず、「セルフケア」、「疫学・分子遺伝学」の項目も盛り込むこととした。

Hatemi らが報告した EURLA のガイドラインは多くの文献的情報を包括し、貴重な資料ではあるが、日本の現状とかなり解離した点もある。例えば、日本で繁用される眼病変に対するコルヒチンは推奨されず、日本では限られた状況でしか使うことないアザチオプリンが重要なポジションを占めている。また、保険適応のないインタフェロンの位置づけも高い。静脈血栓症についてもワーファリンなどの抗凝固療法は肺出血のリスクを上げるとして回避される傾向にあるが、これも日本の実情とは異なる。その意味でも「ベーチェット病の診療ガイドライン作成に向けた臨床調査研究」による現状把握は、どの項目にも共通して必要な事項である。

2) 疫学・統計による解析

今回、臨床情報が最も詳細に得られる H17 年の 829 例の新規臨床調査個人票を使用して、患者ごとの 4 主症状の組み合わせにより特殊型 BD の分布を解析した。結果は、眼病変を除

く、口腔内アフタ性潰瘍、皮膚症状、陰部潰瘍の3症状を有するものが316例(38.1%)と最多であった。特殊型は、149例(18%)であった。副症状との関連からも解析されたが、特殊病型は新規申請時には症状が発現していない可能性があり、また解析症例の中に明らかにBDの診断基準を満たさないとと思われるものも混入していることなどの問題点も指摘された。

口腔内衛生状態の解析からBD患者では健常者に比べ、齲歯、歯周病の有病率が高いことが示唆されたが、唾液の細菌学検討からはその菌数、菌比率に特徴的な所見を認めなかった。また、ブラッシングの回数については1986-87年の検討ではBD患者は健常者より有意に少なかったが、今回は差を認めなかった。これまでも口腔内常在菌の病因的役割に関しては多様な知見が報告されており、患者自身ができるセルフケアという観点からも、今後も引き続き検討すべき課題である。今回の結果は、近年の日本におけるBD患者の減少および軽症化の因子である可能性もある。

3) 臨床個人調査票の改定案

臨床現場での記載を考えると煩雑さは避けたいが、現在のものを臨床解析に使用するにはあまりにも簡素すぎるとの指摘が相次ぎ、以下の点の変更を盛り込んだ改定案を作成した。

a. 新規

①消化器病変に関して、腹痛、潜血又は下血ではいろいろな疾患が除外できない可能性が高い。そこで病変部位を明記するように変更した。また、この変更により、病変は検査上確認された記載になる。

②血管病変はこれまで「血管障害(動脈病変、静脈病変)」「小血管障害」と分類されていた。病変の性格を明確にするため、動脈瘤、動脈閉塞、深部静脈血栓症、肺塞栓の4つに記載を分けた。さらに、皮膚症状にあげられる皮下の血

栓性静脈炎の混入を避けるため、「表在性静脈血栓症は除く」という注意書きを添えた。

③中枢神経病変は頭痛、麻痺、精神症状との記載であったが、急性型(髄膜炎・脳幹脳炎など)、慢性進行型(麻痺・精神症状など)と臨床病型別の記載とした。

④検査所見の炎症反応にあげられる補体価の上昇を多くの施設の正常値を検討し、40から45に変更した。

⑤検査所見の「脂肪組織炎」をより一般的な「脂肪織炎」へ変更した。

⑥検査所見に髄液細胞数を追加した。

⑦鑑別診断のレプトスピロシスからレプトスピラ症へ変更した。

⑧治療状況の免疫抑制薬をシクロスポリンに変更し、インフリキシマブを追加した。

b. 更新

①今回の改訂で最も大きなもので、病状の全貌の把握できるよう、症状の記載項目を「全経過を通じての症状」と「ここ1年間の症状」を個別に記載することとした。

②そのほか、特殊病型の記載、治療状況の記載は新規に準じたものとした。

以上の改訂で、煩雑さは最低限にとどめ、これまでより正確かつ十分な情報が得られることが期待される。

2. 病因・病態研究(基礎研究分科会)

1) 遺伝素因

TRIM10、*TRIM15*の機能は不明であるが*HLA-A*から*HLA-E*の間に隣接して位置し、ゲノムワイドなマイクロサテライト解析により、BDとの相関が見出された。今年度はそれぞれを含む領域のSNPを解析した結果、BDと関連する2SNPsが存在した。HLA-B51およびこれと独立した疾患感受性遺伝子であるHLA-A26と*TRIM10*、*TRIM15*のSNPとの関係を解析した結果、HLA-B51とは独立して

いたが、HLA-A26では陽性者のみと相関が認められた。これらの結果から、HLA-A26の疾患感受性には *TRIM10*、*TRIM15*を含めた機能不明の *TRIM* 遺伝子の多型が関与している可能性が示唆された。

ROBO1 もゲノムワイドなマイクロサテライト解析により BD と有意な相関を持つ可能性が示唆された遺伝子であり、神経の軸索を誘導遺伝子であり、癌抑制遺伝子の候補とも報告されている。今回、その 14 種類の SNP 解析を行い、イントロン 9 とエクソン 18 に存在する 2SNPs のハプロタイプの相関解析で優位な疾患感受性を示し、患者と対照群において疾患感受性に影響する塩基配列の相違が示唆された。今後のさらなる解析が待たれる。

TRIM 遺伝子産物の機能は不明で、また、*ROBO1* 遺伝子産物の既知の機能がいかん BD の病態に関わりうるか合わせて検討していく必要がある。

遺伝素因は BD の発症のみならず、発症後の病型や重症度に関連している可能性もある。そこで、独立した疾患感受性遺伝子として同定されている HLA-A26 および HLA-B51 と臨床病型との解析を行った。従来の指摘通り、HLA-B51 陽性患者では完全型が多かった。症状別では皮膚症状、副鼻腔炎の頻度が高かった。一方、HLA-A26 陽性患者では眼症状、中枢神経症状の頻度が高く、皮膚症状、関節炎は少なかった。また、いずれの HLA も視力予後には関与しなかった。これらの成績は同じ HLA でもそれぞれのアレルが異なる様式で病態へ寄与している可能性を示唆している。

日本人 BD 患者の感受性遺伝子として同定されている *TLR4* 遺伝子については、韓国 BD 患者では日本 BD 患者と異なるハプロタイプとの有意な相関がみられ、特に関節炎の発症との相関が示唆された。日本人の成績と一致しなかった理由は不明であるが、*TLR4* の BD 病態

への関与は遺伝子レベルだけでなく、その発現レベルからも示されており、疾患における自然免疫系の関与、病原微生物との関与という点からも、今後とも検討していくべき課題である。

ゲノムワイドな解析の結果を受けて、疾患感受性候補遺伝子の標的解析はこの *TLR4* のように他人種でも国際共同研究により、比較検討を行うことで、真の BD の責任遺伝子の同定や人種による病型の差の解明につながることを期待される。

IL-7 は T 細胞増殖に関与するサイトカインで皮膚からはケラチノサイトより産生され、BD 皮膚病変の炎症形成の寄与も想定される。しかしながら、*IL-7* 受容体 α 遺伝子プロモーター領域 (-1085) の遺伝子多型については、有意差を認めなかった。

BD の自己炎症症候群として観点から、今年度は *MEFV* 遺伝子について解析を進めた。現在までのところ、日本人でも BD 患者、健常者ともにヘテロの異常は散見されている。疾患、BD の病型との関連を今後していき、さらにインフラマソーム関連遺伝子の解析を広げていく予定である。

2) 環境因子

BD 患者口腔内より分離された *Streptococcus sanguinis* は ATCC 基準株と抗原性の異なる株が検出され、その免疫応答への影響が検討されてきた。BD 患者血清中にはその cell lysate に対する IgA 抗体価が高いこと、cell lysate に存在する蛋白成分は単球に作用し、*IL-8* を強く誘導することが明らかにされてきた。今年度はその蛋白を精製、クローニングの結果から、Histidine-containing phosphocarrier protein (HPr) であることが判明した。解析の結果、HPr は単球の *TLR-2* あるいは *TLR-4* を介して、MAP キナーゼ系を活性化し、*IL-8*、*TNF- α* 産生を誘導することが明らかになった。これらの結果から、BD の病

態形成に HPr が何らかの役割を果たしていることが示唆された。

一方、治療という側面では生体内抗菌ペプチドの応用は興味深い課題として研究されてきた。今年度の研究では、抗菌活性を持つカチオン性ステロイド抗菌薬 CSA-13 は *Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成を著明に阻害し、歯科領域への治療応用が期待され、口腔内衛生の改善により BD にも好影響をもたらすことが期待される。

3) 免疫異常の解析

a. 自己免疫異常

パーチェット病における Th17 細胞の関与を検討するため、BD 患者 27 例(健康人 23 例)の血漿中の IL-17 濃度を ELSIA にて測定したところ BD 患者で高い傾向が認められ、治療により軽快した 4 例の治療前後での比較では 4 中 3 例に低下が認められた。IL-17 産生細胞と考えられる末梢血単核細胞中の IL-23 受容体を発現する CD4 および $\gamma\delta$ T 細胞の比率も治療前と比較して治療後に減少していた。また BD 患者末梢血単核細胞はレクチン刺激により mRNA レベルで IL-23 発現亢進が観察され、SMAD2mRNA の亢進を伴っていた。さらに皮膚病変の解析でも IL-17、IL-21 陽性細胞が少数ながら確認された。以上の所見はいずれも予備的ではあるが、Th17 細胞の病態への関与を示唆するものであり、今後の検討課題である。

b. 自然免疫系の異常

ヒト末梢血単球、患者由来白血病細胞、白血病細胞株などを用いて検討した結果、HO-1 の発現は転写因子 Nrf-2 よりも Bach1 による制御の影響を強く受け、Bach1 強制発現は HO-1 発現低下を、逆に siRNA によるノックダウンは HO-1 発現増強をきたすことを見出した。この機構は白血病細胞では HO-1 のアポトーシス制御を介した腫瘍細胞の生存に、正常単球では HO-1 の炎症制御を介した炎症エフェクタ

一機能に関与している可能性が示唆されている。

c. 動物実験モデル

実験的ブドウ膜炎に対するオステオポンチン特異的 siRNA による予防的治療効果を詳細に検討した結果、IFN- γ 、TNF- α に加え、IL-17、GM-CSF、IL-2 の産生も低下していることが判明し、Th1 細胞および Th17 細胞をも抑制しているものと考えられた。

また、同じモデルを用いて、抗 TNF- α 抗体の硝子体内局所投与の有効性が示されたが、患者に応用するには、局所投与の手技自体が炎症惹起に作用しないかという議論もあり今後の検討が必要である。

さらに、熱ショック蛋白 heat shock protein (HSP65) ペプチド断片 (HSP336-351) 投与により、Lewis ラットにおいてこれまでの報告通り、軽症ながらブドウ膜炎の発症が再現された。C57BL6 マウスにおいても同様の実験がなされたが、死亡例が多く現在のところ十分な解析はできていない。今後、コンピュータの親和性解析から HSP336-351 ペプチドが抗原提示されることが予想される H-2 ハプロタイプを持つ B10Br での検討が予定されている。

病態解析および治療の新しい展開を検討するためには、モデル動物の確立は不可欠であり、今後の進展に期待したい。

3. 広報活動

本研究班では以下のホームページを新規に開設した。

<http://www-user.yokohama-cu.ac.jp/~behcet/index.html>

内容は患者用の FAQ、相談質問の受付、全国の BD 患者診療医リスト、本研究班会議録、そのほかの関連学会および研究会での BD に関するトピックスの紹介などであり、是非一度参照していただきたい。

また、本紙上を借りて、診療医リストの作成にご協力いただいた諸先生方、ペーチェット病友の会の皆様に深謝致します。

E. 結論

1. 診療ガイドライン作成に関しては、MINDsの手法に沿って行う予定であったが、エビデンスレベルの高い文献が十分とは言えず、まずは日本での臨床実態を把握することが先決であり、その目的で包括的な「ペーチェット病の診療ガイドライン作成に向けた臨床調査研究」を多施設共同研究として立ち上げた。
2. 効率的な臨床調査が可能となるように、現在の臨床個人調査票改定案を提示した。
3. マイクロサテライトを用いたゲノムワイドの解析結果をもとに、疾患感受性候補遺伝子 *TRIM*、*ROBO1* などについての解析を開始した。また、日本人 BD 患者で明らかにされた感受性遺伝子、TLR4 遺伝子について韓国人を対象に検討した。このような他人種における検討は今後も国際共同研究として進めていく。
4. 環境因子の中でも、以前より指摘されている口腔内細菌の病態への関与は、口腔衛生との関連からも解析していくべき課題である。患者口腔内より分離された *Streptococcus Sanguinis* 様菌より単離された HPr の関与についてもさらに検討すべきである。
5. Th17 細胞が BD の病態に関与している可能性が示され、BD の自己免疫疾患としての側面についても検討を継続する必要がある。
6. 病態解析のみならず新たな治療を開発するためにもモデル動物の開発が期待される。
7. 本研究班による情報発信源として、ホームページを開設した。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

学術論文

英文総説

1. Kaneko F, Oyama N, Yanagibori H, Isogai E, Yokota K, Oguma K. The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behçet's disease. *Euro J Dermatol* 18(5): 489-498, 2008
2. Isogai E, Isogai H, Hayashi S. Tick biology and tick-borne infections, *Current Trend in Microbiology* (in press) 2008
3. Hirohata S: Potential new therapeutic options for involvement of central nervous system in Behçet's disease (Neuro-Behçet's syndrome). *Curr Rheumatol Rev*, 3: 297-303, 2007.

英文原著

1. Kirino Y, Takeno M, Watanabe R, Murakami S, Kobayashi M, Ideguchi H, Ihata A, Ohno S, Ueda A, Mizuki N, Ishigatsubo Y. Association of reduced heme oxygenase-1 with excessive Toll-like receptor 4 expression in peripheral blood mononuclear cells in Behçet's disease. *Arthritis Res Ther*. 2008;10(1):R16. Epub 2008 Jan 31.
2. Han'gombe BM, Isogai E, Mubita C, Isogai N, Silungwe M, Chisenga C, Moonga L, Mulenga E, Yabe J, Takaya A, Yamamoto T, Kurebayashi Y, Isogai H. Detection of InvA, SpiC, SipC, InvF and HilA in *Salmonella* isolated from beef and poultry by Dot Blot Hybridization in Zambia, *Int J Appl Res Vet Med*, 6(1): 1-6, 2008

3. Mubita C, Syakalima M, Chisenga C, Munyeme M, Bwalya M, Chifumpa G, Hang'ombe BM, Sinkala P, Simuunza M, Fukushi H, Isogai H, Yasuda J, Isogai E. Antibiograms of faecal *E coli* and enterococci species isolated from pastoralist cattle in the interface areas of the Kafue basin in Zambia. *Veterinaski Arhi* 78(2): 179 – 185, 2008
4. Takaya A, Tabuchi F, Tsuchiya H, Isogai E, Yamamoto T. Negative regulation of quorum-sensing systems in *Pseudomonas aeruginosa* by ATP-dependent Lon protease. *J Bacteriol* 190 (12), 4181-4188, 2008
5. Isogai H, Isogai E, Takahashi K, Kurebayashi Y. Effect of catechin diet on gingivitis in cats. *Int J Appl Res Vet Med* 6(2)82-86, 2008
6. Kobayashi-Sakamoto M, Isogai E, Hirose K, Chiba I. Role of alpha(v) integrin in osteoprotegerin-induced endothelial cell migration and proliferation. *Microvasc Res*, in press, 2008
7. Isogai E, Isogai H, Takahashi K, Okumura K, Savage PB. Ceragenin CSA-13 exhibits antimicrobial activity against cariogenic and periodontopathic bacteria. *Oral Microbiol Immunol*, 24, in press, 2009
8. Yabe T, Matsuo T, Hirayasu K, Kashiwase K, Kawamura-Ishii S, Tanaka H, Ogawa A, Takanashi M, Satake M, Nakajima K, Tokunaga K, Inoko H, Saji H, Ogawa S, Juji T, Sasazuki T, Kodera Y, Morishima: Donner killer immunoglobulin-like receptor (KIR) genotype-patient cognate KIR ligand combination and antithymocyte globulin preadministration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand-mismatched T Cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation (BBMT)* 14: 75-87, 2008.
9. Hui J, Oka A, James A, Palmer LJ, Musk AW, Beilby J, Inoko H: A genome-wide association scan for asthma in a general Australian population. *Hum Genet* 123: 297-306, 2008.
10. Meguro A, Ota M, Katsuyama Y, Oka A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N: Association of the toll-like receptor 4 gene polymorphisms with Behcet's disease. *Ann Rheum Dis* 67: 725-727, 2008.
11. Ohtsuka M, Inoko H, Kulski JK, Yoshimura S: Major histocompatibility complex (Mhc) class Ib gene duplications, organization and expression patterns in mouse strain C57BL/6. *BMC Genomics* 9:178-192, 2008
12. Kimura T, Kobayashi T, Munkhbat B, Oyungerel G, Bilegtsaikhan T, Anar D, Jambaldorj J, Munkhsaikhan S, Munkhtuvshin N, Hayashi H, Oka A, Inoue I, Inoko H: Genome-wide association analysis with selective genotyping identifies candidate loci for adult height at 8q21.13 and 15q22.33-q23 in Mongolians. *Hum Genet* 123: 655-660, 2008.

13. Ando A, Uenishi H, Kawata H, Tanaka-Matsuda M, Shigenari A, Flori L, Chardon P, Lunney JK, Kulski JK, Inoko H: Microsatellite diversity and crossover regions within homozygous and heterozygous SLA haplotypes of different pig breeds. *Immunogenetics* 60: 399-407, 2008.
14. Holland LZ, Albalat R, Azumi K, Benito-Gutiérrez E, Blow MJ, Bronner-Fraser M, Brunet F, Butts T, Candiani S, Dishaw LJ, Ferrier DE, Garcia-Fernández J, Gibson-Brown JJ, Gissi C, Godzik A, Hallböök F, Hirose D, Hosomichi K, Ikuta T, Inoko H, Kasahara M, Kasamatsu J, Kawashima T, Kimura A, Kobayashi M, Kozmik Z, Kubokawa K, Laudet V, Litman GW, McHardy AC, Meulemans D, Nonaka M, Olinski RP, Pancer Z, Pennacchio LA, Pestarino M, Rast JP, Rigoutsos I, Robinson-Rechavi M, Roch G, Saiga H, Sasakura Y, Satake M, Satou Y, Schubert M, Sherwood N, Shiina T, Takatori N, Tello J, Vopalensky P, Wada S, Xu A, Ye Y, Yoshida K, Yoshizaki F, Yu JK, Zhang Q, Zmasek CM, de Jong PJ, Osoegawa K, Putnam NH, Rokhsar DS, Satoh N, Holland PW: The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology. *Genome Res* 18: 1100-1111, 2008.
15. Shibuya E, Meguro A, Ota M, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Ohno S, Inoko H, Mizuki N: Association of toll-like receptor 4 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49: 4453-4457, 2008.
16. Kulski JK, Shigenari A, Shiina S, Ota M, Hosomichi K, James I, Inoko H: Human endogenous retrovirus (HERVK9) structural polymorphism with haplotypic HLA-A allelic associations. *Genetics* 108: 446-457, 2008.
17. Takemoto Y, Naruse T, Namba K, Kitaichi N, Ota M, Shindo Y, Mizuki N, Gul A, Madanat W, Chams H, Davatchi F, Inoko H, Ohno S, Kimura A: Re-evaluation of heterogeneity in HLA-B*510101 associated with Behçet's disease. *Tissue Antigens* 72: 347-353, 2008.
18. Sumiyama D, Kitamura S, Terasawa F, Hori Y, Murata K, Kulski JK, Inoko H: Paternity determination of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) using microsatellite DNA analysis. *J Vet Med Sci* 70: 711-713, 2008.
19. Hosomichi K, Miller MM, Goto RM, Wang Y, Suzuki S, Kulski JK, Nishibori M, Inoko H, Hanzawa K, Shiina T: Contribution of mutation, recombination, and gene conversion to chicken MHC-B haplotype diversity. *J Immunol* 181:3393-3399, 2008.
20. Akiyama M, Yatsu K, Ota M, Katsuyama Y, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Kumagai N, Nishida T,