

厚生科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

分担報告研究

## 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

分担研究者	磯貝恵美子	北海道医療大学歯学部保健衛生学教室
研究協力者	磯貝 浩	札幌医科大学医学部実験動物施設
	大野重昭	北海道大学大学院医学研究科視覚器病学分野
	小林美智代	北海道医療大学歯学部保健衛生学教室
	奥村一彦	北海道医療大学歯学部口腔外科学教室
	横田賢治	岡山大学保健医療学部学部細菌学教室
	小熊恵二	岡山大学医学部細菌学教室
	金子史男	福島県立医科大学医学部皮膚科
	P. B. Savage	Univ. of Education, Brigham Young University

### 研究要旨

異物処理の最初の防御壁となる自然免疫機構にはペプチド、脂質などを含めた多くの抗菌物質が存在している。これらのペプチドは単に抗菌活性を持つだけでなく、免疫調節にも関与することが報告されつつある。我々は治療薬候補として新規に開発したカチオン性ステロイド抗菌剤 CSA-13 がカセリシジンファミリー抗菌ペプチドと同等の抗菌活性を持つことを報告した。そこで、本研究ではバイオフィーム形成阻害活性について調べた。すなわち、CSA-13 をハイドロキシアパタイトにコートした場合としない場合での、*Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成を比較した。CSA-13 は著明なバイオフィーム形成阻害活性を示した。コートなしの群では単位表面積 (cm<sup>2</sup>) あたりの付着菌数は  $2.5 \times 10^5$  であったのに対して、CSA-13 コート群では検出限界以下であった。また、培養経過中の菌の濁度は有意に CSA-13 コート群で阻害された。走査電子顕微鏡像で CSA-13 が付着・定着を阻害していることが確認できた。CSA-13 は優れた安定性があるため、様々な歯科材料への応用が可能である。

### A. 研究目的

口腔内には多種多様の細菌が生息している。これらは口腔の硬組織である歯面や軟組織である舌や頬粘膜へ付着し、独自のフローラを形成している。上皮細胞から分泌される抗菌ペプチドは口腔病原細菌に対して抗菌作用を示すことを報告した。抗菌作用としてはペーチェット病 (BD) 患者由来の口腔ストレプトコッカスに対して

も強い抗菌活性を示した。その時の結合サイトはリポタイコ酸 (LTA) であった。抗菌ペプチドは治療薬として有用な多くの活性を持つが安定性に問題があるだけでなく、その合成には高額な費用を必要とする。そこで、合成に費用がかからず生体にでも有効に作用する創薬が期待された。

カチオン性合成ステロイドとして新規に開発された CSA-13 の生物活性

を抗菌ペプチドと比較するとよく似た活性を示す。これは分子構造が異なっても同レベルのカチオン性を示す場合同様の活性が表れるという仮説に基づくものであった。カチオン性ステロイド抗菌剤は合成が容易であり、生体内での酵素による分解に抵抗性する。我々は CSA-13 が強力なプロテアーゼ活性を持つ歯周病原細菌にも強い作用を持つことを明らかにした。

本研究では口腔フローラを効果的に制御する目的で、CSA-13 によるバイオフィーム形成阻害実験を行った。

## B. 研究方法

CSA-13 をハイドロキシアパタイト (APP-101, 1 X 1 X 0.2 cm, ペンタックス, HA) にコートした場合としない場合での、*Streptococcus mutans* のバイオフィーム形成を比較した。HA に付着・定着している細菌数の算定は *S. mutans* Ingbritt を HA ブロック入り BHI 培養液中で 37°C 48 時間培養後、ジルコニアビーズによって付着細菌をはがした。この細菌浮遊液を培養に供し、表面積 1 ブロックあたりの菌数を求めた。さらに、同様の方法で培養したサンプルを走査電子顕微鏡で観察し、1 ブロックあたりの付着を調べた。

## C. 研究結果

CSA-13 は著明なバイオフィーム形成阻害活性を示した。コートなしの郡ではブロック表面積 (2.8 cm<sup>2</sup>) あたりの平均付着菌数は  $2.5 \times 10^5$  であったのに対して、CSA-13 コート郡では検出限界 ( $1.1 \times 10$ ) 以下であった ( $P < 0.01$ )。また、培養経過中の菌の濁度は有意に CSA-13 コート郡で阻害された。一方、HA ブロックが入っていない培養液中で *S. mutans* を培養したときに比べて、

HA ブロックが入っている培養液で培養したときのほうが細菌はよく増殖した。走査電子顕微鏡像で CSA-13 が殺菌作用によって菌数を減らすだけでなく、付着・定着そのもの阻害した (Fig. 1)。CSA-13 は優れた安定性があるため、様々な歯科材料への応用が可能である。

## D. 考察

カセリシジンファミリーの抗菌ペプチドは実験的ブドウ膜炎を抑制することなどからベーチェット病治療に有用であると考えられる。特に CAP18/LL37 活性ドメイン領域の合成ペプチドは人に備わった自然免疫の力を補充するというもので、これまでの治療薬による副作用や耐性菌や耐性細胞の出現を抑制するための新しい治療戦略をめざしものである。しかし、最大のウイークポイントは治療薬として応用する際、きわめて高価となることであった。さらにペプチドであるためプロテアーゼによる分解のリスクがあり、安定性の問題をクリアせねばならなかった。本研究ではカセリシジンファミリーの抗菌ペプチドと同等あるいはそれ以上の活性を持つ CSA-13 が *S. mutans* に対してバイオフィーム阻害活性を示すことを明らかにした。本剤は歯科領域で広く応用が可能といえる。

バイオフィーム形成に細菌増殖の足場があるかないかで全体の菌数に影響があることがわかった。また、足場にバイオフィーム形成阻害剤を使用することで増殖が阻害されることが示された。これは除放性に CSA-13 が放出されたことによると考えられた。

## E. 結論

CSA-13 はバイオフィルム形成阻害活性を示した。このことは歯科材料等へ CSA-13 を応用できることを示唆する。

#### F. 健康危険情報 特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

###### 原著

1. 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
2. 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. Antibigrams 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
3. 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
4. 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

5. 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
6. 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

##### 著書

1. 磯貝恵美子：ライム病、印刷中、動物病理学各論、文永堂出版、2009

##### 総説

1. Kaneko F, Oyama N, Yanagihiro H, Isogai E, Yokota K, Oguma K. The role of streptococcal hypersensitivity in the pathogenesis of Behcet's disease. *Eur J Dermatol*. 18(5): 489-98, 2008
  2. Isogai E, Isogai H, Hayashi S. Tick biology and tick-borne infections, *Current Trend in Microbiology* (in press) 2008
- ##### 2. 国際学会発表
1. Isogai E, Isogai H, Okumura K, Kobayashi-Sakamoto M, Kaneko F, Ohgami K, Ohno S, Savage PB, Functional properties of cationic antimicrobial compounds on the neutrophils and endothelial cells, 13<sup>th</sup>

- International Conference for Behcet's disease, Klagenfurt, May 24-27, 2008
2. Isogai H, Isogai E, Okumura K, Kobayashi-Sakamoto M, Kaneko F, Ohgami K, Ohno S, Savage PB. Protective effects of antimicrobial steroid (CSA-13) against bacterial infection with ocular manifestations. 13<sup>th</sup> International Conference for Behcet's disease, Klagenfurt, May 24-27, 2008
  3. Kaneko F, Oyama N, Yanagihori H, Isogai E, Yokota K, Oguma K, Role of oral streptococci in the pathogenesis of Behcet's disease. 13<sup>th</sup> International Conference for Behcet's disease, Klagenfurt, May 24-27, 2008
  4. Isogai E, Isogai H, Takahashi K, Kobayashi-Sakamoto M, Pathogenesis of skin lesions in Lyme disease, 11<sup>th</sup> International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-borne diseases, Irvine, USA, Oct. 19-23, 2008
  5. Isogai H, Isogai E, Antimicrobial activity of tick defensins against Lyme disease spirochetes and bacteria isolated from the midgut, 11<sup>th</sup> International Conference on Lyme Borreliosis and other tick-borne diseases, Irvine, USA, Oct. 19-23, 2008

H. 知的財産権の出願、登録状況  
特になし。



Fig. 1 Inhibition of bacterial adherence to HA coated with CSA-13  
A: No bacterial adherence on the surface of HA coated with CSA-13; B: Many adhering bacteria on the surface of HA (non-coated); C: Surface of HA (before experiment)

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

「ペ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」

研究分担者 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  
岩淵 和也 北海道大学遺伝子病制御研究所免疫生物分野  
岩田 大樹 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  
北市 伸義 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  
上出 利光 北海道大学遺伝子病制御研究所分子免疫分野  
大野 重昭 北海道大学大学院医学研究科研究眼科学分野

研究要旨 実験的自己免疫性ぶどう膜炎（EAU）モデルを用い、small interfering (si) RNA を用いてオステオポンチン（OPN）の発現抑制をした結果、発症日が有意に遅延し、臨床・病理組織スコアは有意な低下を認めた。EAU 感作に使用した視細胞間レチノイド結合蛋白質由来ペプチド特異的 T 細胞増殖反応は軽度抑制されたが、培養上清中の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生は有意に低下していた。さらに、IL-17、GM-CSF、IL-2 産生量が OPN 機能阻害によって低下することが判明した。したがって、OPN の RNA 干渉による EAU 治療の奏功メカニズムとして、Th1 と同時に Th17 細胞の抑制も考えられた。発症後の OPN 機能阻害効果も調べたが、臨床スコアで調べた段階では、感作時に OPN siRNA 投与した場合のような有意な病勢抑制は認められなかった。

#### A. 研究目的

我々は OPN ノックアウトマウスでは実験的自己免疫性ぶどう膜炎（EAU）の臨床・病理組織スコアが低下すること、野生型の C57BL/6 マウスに EAU を誘導し、抗 OPN 抗体 M5 を用いて、OPN/OPN レセプター（R）結合を阻害すると軽症化することを報告した<sup>1</sup>。さらに、small interfering (si) RNA を用いた RNA 干渉法による OPN の機能阻害によっても EAU の軽症化を誘導でき、抗原特異的 T 細胞応答における培養上清中の TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  産生の低下を伴うことなどを本班会議において発表した<sup>2</sup>。これらの結果は、OPN は EAU の重症化に重要な役割を果たしていることを示しており、Th1 病としての

EAU に対する OPN の促進効果として理解可能である。しかし、IL-12 が EAU に対して防護的に機能し<sup>3</sup>、抗 IFN- $\gamma$  抗体が EAU を悪化させる<sup>4</sup> という報告は、EAU は単純な Th1 病ではない可能性を示唆する。事実、Egwuagu ら<sup>5</sup> は、ヒトぶどう膜炎患者末梢血、EAU マウスモデルの末梢血、リンパ節、網膜に Th17 細胞が存在し、これらは IL-2 によって増殖することから、EAU の発症に Th17 細胞が重要な役割を担っていることを明らかにした。今回、我々は OPN の機能阻害による EAU 軽症化のメカニズムの一つとして Th17 細胞に対する影響があるか否か、またぶどう膜炎発症後の治療が奏効するか否かについて検討したので報告する。

#### B. 研究方法

##### 1. EAU の誘導法および siRNA

EAU は 6 週齢の C57BL/6 (B6) 雌マウスに、ヒト視細胞間レチノイド結合蛋白質ペプチド (hIRBP<sub>1-20</sub>:GPTHLFQPSLVLDMAKVLDD)200 $\mu$ g をフロインド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誘導した。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<sup>6</sup>。また、眼球についてはグルタールアルデヒド前固定/フォルマリン後固定の後、パラフィン切片を HE 染色し、病理組織学的評価 (0-4) を行った<sup>6</sup>。マウス OPN 特異的 siRNA (OPN-siRNA) による実験的治療は B6 マウスを用い、感作 1 日前と感作時に 50 $\mu$ g/マウス (1 ml リン酸緩衝生理食塩水) をハイドロダイナミック法で投与した<sup>7</sup>。対照群にはコントロール配列の siRNA (control-siRNA) を同様に投与した。

## 2. T 細胞増殖反応と上清のサイトカイン測定

hIRBP<sub>1-20</sub> ペプチドで感作 10 日後、所属リンパ節を採取した。T 細胞エンリッチメントカラム (R&D システム) にかけて得たリンパ節由来 T 細胞分画を、30 Gy X 線照射した同系脾細胞 (抗原提示細胞)、抗原ペプチドと 48 時間培養した。T 細胞増殖は <sup>3</sup>H-thymidine (Perkin-Elmer ジャパン) 取り込みで、上清中に産生されたサイトカインは、フローサイトメーターを用いたビーズベースの測定法を用いて定量した (Bender MedSystems)。

## 3. 倫理面への配慮

動物実験は、北海道大学動物実験委員会で審議を経た後、許可を得てから実施した。

## C. 研究結果

### 1. OPN-siRNA 投与マウスにおけるぶどう膜炎の軽症化と IL-17

OPN-siRNA を投与した EAU 誘導 B6 マウスで

は、control-siRNA 投与群と比較して、ぶどう膜炎の発症が遅延し、ピーク時の臨床スコア (0.89  $\pm$  0.68 vs 2.44  $\pm$  0.78)・組織病理スコア (0.88  $\pm$  0.69 vs 1.5  $\pm$  0.73) (図 1) とも有意 ( $p < 0.05$ ) に低下した。軽症化のメカニズムを明らかにするために、OPN-siRNA 投与群より得た脾臓 T 細胞を用いて、抗原特異的増殖反応を解析したところ、低下傾向はあったものの、両群間で有意な変化は認められなかった。一方、培養上清中の IFN- $\gamma$  産生量には、control-siRNA 投与群の産生量と比較して、OPN-siRNA 群で有意な低下が認められた (以上は前回の報告と同様であった)。前回は測定サイトカインを ELISA にて測定したが、今回は、ビーズベースのフローサイトメトリーを用いた方法で 10 種類を同時測定した。その結果、IL-4, -5, -10, -6, -1 $\alpha$  に関しては OPN-siRNA、control -siRNA 両群間で産生に差は認められなかったが、IL-17 (図 2), -2, GM-CSF は OPN-siRNA 投与群で有意に低下していることが判明した。したがって、IL-17 は OPN の機能阻害による EAU の抑制において、1 つの標的分子となっていることが考えられた。

### 2. 発症後の OPN-siRNA 治療と臨床経過

RNA 干渉法を実際の治療に使う場合を想定して、臨床スコアが上昇し始めるところで siRNA 投与を開始するプロトコルを試行した。今回の試みでは 7 日付近で上昇を観察したため、7 日、8 日と 2 回、OPN あるいは control-siRNA を投与した。その結果、OPN-siRNA 群と control -siRNA 群間の臨床スコアの経過には差が認められなかった。

## D. 考察

OPN は、IL-12 発現促進・IL-10 産生抑制<sup>8</sup>、形質細胞様樹状細胞からの IFN- $\alpha$  産生など<sup>9</sup>、従来 Th1 免疫偏倚に促進的に機能する面が強調される一方、活性化 T 細胞のアポトーシス

を抑制する作用も報告されている<sup>10</sup>。したがって、OPN-siRNAはOPNの発現を低下させることで、Th1細胞の活性化阻止や活性化T細胞のアポトーシスを促進し、治療効果を発揮することが推測される。これまでの我々の抗体による実験治療の結果からも、抗原特異的T細胞の培養上清中のIFN- $\gamma$ やTNF- $\alpha$ の産生抑制など、このスキームに適合していたが、今回の結果はOPNの機能阻害の他のメカニズムとして、Th17細胞の抑制を介する経路も重要である可能性を示唆している。Egwuaguら<sup>5</sup>は、IL-27（網膜細胞などが恒常的に産生し、またIFN- $\gamma$ /STAT1依存性に産生増強される） $\rightarrow$ SOCS3 $\uparrow$  $\rightarrow$ IL-6 $\cdot$ IL-23 $\downarrow$ の経路でTh17細胞の分化・増殖を抑制することをぶどう膜炎制御の1つのメカニズムと考察している。最近、我々はOPNの欠損（特に細胞内）がT細胞抗原受容体シグナル下流でT-bet $\rightarrow$ IFN- $\gamma$ 系には影響を与えずに、NFAT2 $\rightarrow$ GATA3 $\rightarrow$ IL-4系を抑制することを明らかにしたが、OPNの機能阻害の細胞内シグナルに対する効果については、更なる検討が必要である<sup>11</sup>。また、実験的治療面に関しては、EAUの病期におけるIL-17（初期）、IFN- $\gamma$ （後期）の関与について整理することで、より良いEAUの制御法が開発出来ると考えられる。

#### 参考文献

1. Kitamura M et al. *J Immunol.* 2007; 178: 6567.
2. Kitamura M et al. (*Exp Eye Res* in revision)
3. Tarrant TK et al. *J Exp Med.* 1996; 157: 2668.
4. Caspi RR et al. *J Immunol.* 1999; 189: 219.
5. Amadi-Obi A et al. *Nat Med.* 2007; 13: 711.
6. Namba K et al. *J Immunol.* 2000; 165: 2962.
7. Saito Y et al. *Hum Gene Therapy.* 2007; 18: 1205.
8. Shinohara ML et al. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102 (47): 17101.
9. Shinohara ML et al. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102 (47): 17101.
10. Hur EM et al. *Nat Immunol.* 2007; 8(1): 74.
11. Diao H et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 15884.

#### E. 結論

OPNの機能阻害によるEAU抑制としては、Th1のみならずTh17細胞機能の抑制により、ぶどう膜炎の炎症を制御していることが一つの奏功メカニズムである。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Mizuuchi, K., Yanagawa, Y, Iwabuchi, K., Namba, K., Ohno, S. and Onoé, K.: H2-D<sup>d</sup>-mediated upregulation of IL-4 production by natural killer T cell and dendritic cell interaction. *Immunology*, 124, 102-111, 2008.
2. Mishima, T., Iwabuchi, K., Fujii, S., Tanaka, S., Ogura, H., Miyata, K., Ishimori, N., Andoh, Y., Nakai, Y., Iwabuchi, C., Ato, M., Kitabatake, A., Tsutsui, H. and Onoé, K.: Allograft inflammatory factor-1 augments macrophage phagocytotic activity and accelerates the progression of atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Int. J. Mol. Med.* 21, 181-187, 2008.
3. Miyazaki, A., Kitaichi, N., Ohgami, K., Iwata, D., Jin, X-H., Iwabuchi, K., Morohashi, T., Ohno, S. and Onoé, K.: Anti-inflammatory effect of angiotensin type I receptor antagonist on endotoxin-induced uveitis in rats. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 246,747-757, 2008.
4. Miyazaki, Y., Iwabuchi, K., Iwata, D., Miyazaki, A., Kon, Y., Niino, M., Kikuchi, Y., Yanagawa, Y., Luc Van Kaer, Sasaki, H. and Onoé, K.: Effect of high fat diet on NKT cell function and NKT cell-mediated regulation of Th1 responses. *Scand. J. Immunol.* 67, 230-237, 2008.
5. Hirata, N., Yanagawa, Y., Ebihara, T., Seya, T., Uematsu, S., Akira, S., Hayashi, F., Iwabuchi, K. and Onoé, K.: Selective synergy in anti-inflammatory cytokine production upon



- cooperated signaling via TLR4 and TLR2 in murine conventional dendritic cells. **Mol. Immunol.** 45, 2734-2742, 2008.
6. Miyazaki, Y., Iwabuchi, K., Kikuchi, S., Fukuzawa, T., Niino, M., Sasaki, H. and Onoé, K.: Expansion of CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T cells producing high levels of interferon- $\gamma$  in peripheral blood of patients with multiples sclerosis. **Mult. Scler.** 14, 1044-1055, 2008.
  7. Wakao, H., Wakao, R., Sakata, S., Iwabuchi, K., Oda, A. and Fujita, H.: In vitro induction of natural killer T cells from embryonic stem cells prepared by somatic cell nuclear transfer. **FASEB J.** 22, 2223-2231, 2008.
  8. Ohnishi, N., Yuasa, H., Tanaka, S., Sawa, H., Miura, M., Matsui, A., Higashi, H., Musashi, M., Iwabuchi, K., Suzuki, M., Yamada, G., Azuma, T. and Hatakeyama, M.: Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 105, 1003-1008, 2008.
  9. Diao, H., Iwabuchi, K., Li, L., Onoé, K., Van Kaer L., Kon, S., Saito, Y., Morimoto, J., Denhardt, D., Rittling, S. and Uede, T.: Osteopontin regulates development and function of invariant natural killer T cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 105, 15884-15889, 2008.
  10. Yanagawa, Y., Iwabuchi, K. and Onoé, K.: Cooperative action of IL-10 and IFN- $\gamma$  to regulate dendritic cell functions. **Immunology**, (in press)
2. 学会発表
    1. 小野江和則: 講演 T細胞免疫系の機能と疾患との関わり, 滋賀医科大学免疫学セミナー, 2008. (於 大津)
    2. 柳川芳毅, 平田徳幸, 小野江和則: シンポジウム 樹状細胞研究の新展開と樹状細胞免疫療法の現状と将来. 「樹状細胞におけるサイトカイン産生バランスの制御機構」第48回日本リンパ網内系学会総会, 2008. (於 札幌)
    3. 平田徳幸, 柳川芳毅, 海老原敬, 瀬谷司, 植松智, 審良静男, 林史恵, 岩渕和也, 小野江和則: TLR4とTLR2を介した選択的かつ相乗的な炎症性サイトカインの産生. 第48回日本リンパ網内系学会総会, 2008. (於 札幌)
    4. Izuts, Y., Maeno, M., Taira, M. and Onoé, K.: Requirement of keratin-related protein Ouroboros as immune antigens for metamorphic tail regression in *Xenopus*. 12<sup>th</sup> International *Xenopus* Conference, 2008. (at Germany)
    5. 岩渕和也: A 演説 ナチュラルキラーT (NKT) 細胞機能の分化と生体内における新しい役割. 第54回日本病理学会秋期特別総会, 2008. (於 愛媛)
    6. Kitaichi, N., Kitamura, M., Iwabuchi, K., Kon, S., Uede, T., Onoé, K. and Ohno, S.: Clinical and basic study for the role of Osteopontin in intraocular inflammation. 13<sup>th</sup> International Conference for Behcet's Disease, 2008. (at Pörschach / Klagenfurt, Austria)
    7. 小野江和則: 講演 再生医学の現状と将来. 無名会, 2008. (於 札幌)
    8. 青柳武史, 山下健一郎, 柳川芳毅, 後藤了一, 五十嵐瑠美, 芳賀さなえ, 尾崎倫孝, 小野江和則, 梅澤一夫, 藤堂省: 新規NF- $\kappa$ B阻害薬DHMEQによる免疫抑制樹状細胞の誘導. 第48回日本リンパ網内系学会総会, 2008. (於 札幌)
    9. 平田徳幸, 柳川芳毅, 海老原敬, 瀬谷司, 植松智, 審良静男, 林史恵, 岩渕和也, 小野江和則: TLR4およびTLR2刺激による樹状細胞のIL-10相乗的産生誘導. 第41回北海道病理談話会, 2008. (於 札幌)
    10. Ogura, H., Andoh, Y., Iwabuchi, K., Satoh, M., Fujii, S. and Onoé, K.: A collaborative role of NK cells with NKT cells in the aggravation of atherosclerosis induced by

lipopolysaccharide administration. 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 2008. (於京都)

11. Hirata, N., Yanagawa, Y., Ebihara T., Seya, T., Uematsu, S., Akira, S., Hayashi, F., Iwabuchi, K. and Onoé, K.: TLR4 acts in synergy with TLR2 in IL-10 production by murine dendritic cells. 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 2008. (於 京都)
12. Satoh, M., Iwabuchi, K., Ogura, H., Fujii, S. and Onoé, K.: Involvement of allograft inflammatory factor-1 for the development of atherosclerosis in murine model. 第38回日本免疫学会総会・学術集会, 2008. (於 京都)

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

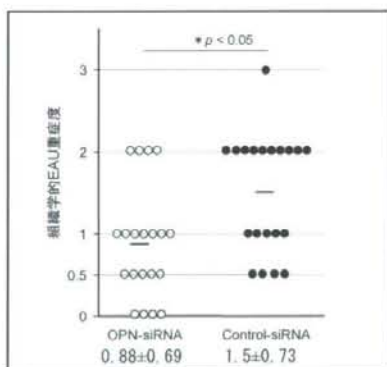


図1. EAU組織学的重症度の比較

B6マウスにIRBP<sub>1-20</sub>感作24h前と感作時にcontrol-siRNA(右)あるいはOPN-siRNA(左)50 μgを尾静脈から投与し、21日後に眼球を病理組織学的に評価した。

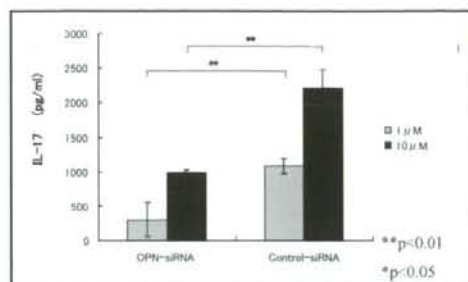


図2. OPNを標的としたRNA干渉によるIL-17産生の抑制

B6マウスにIRBP<sub>1-20</sub>感作24h前と感作時にcontrol-siRNA(右)あるいはOPN-siRNA(左)50 μgを尾静脈から投与し、10日後に所属リンパ節より細胞を調整、1 μM(灰色バー)あるいは10 μM(黒バー)のIRBP<sub>1-20</sub>存在下48時間培養した上清中のIL-17をFlowCyto Mix(Bender MedSystem)で測定した。

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

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

分担研究者 大野 重昭 北海道大学大学院医学研究科炎症眼科学分野

研究分担者 三浦 淑恵 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野  
北市 伸義 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野  
大神 一浩 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野

研究要旨

抗 TNF- $\alpha$  抗体は 2007 年にベーチェット病に伴う難治性網膜ぶどう膜炎に対して保険適用となり、現在点滴静注で全身投与されている。今回、我々は実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) ラットの硝子体内に抗 TNF- $\alpha$  抗体を投与し、その効果を検討した。

6-8 週齢ルイスラットの片眼に抗マウス TNF- $\alpha$  抗体 50ng を硝子体内投与した。対照群は PBS を同様に投与した。24 時間後に合成網膜由来抗原 R16 と完全フロイドアジュバンドのエマルジョンで免疫し、EAU を惹起して経時的に重症度を観察した。

ピーク時である 14 日目の臨床的重要度は抗体投与眼では 1.5、非投与眼では 3.3 であり、抗体投与眼では有意に軽症化した ( $P < 0.01$ )。対照群では重症度に差はなかった。また、投与された抗体は眼内に残存することが組織学的に観察された。

本抗体の硝子体内投与は EAU の軽症化に有効であった。本治療は難治性内眼炎の新たな治療手段として臨床応用が期待できる。

A. 研究目的

ベーチェット病をはじめとするぶどう膜網膜炎は主な失明の原因の 1 つであり、2007 年 1 月に抗 TNF- $\alpha$  抗体の点滴静脈注射がベーチェット病に伴う難治性網膜ぶどう膜炎の保険適用となった。しかし、全身投与は重篤な合併症や投与時反応を引き起こす場合がある。今回我々は、ヒトぶどう膜網膜炎の動物モデルである実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎 (EAU) を用い、抗 TNF- $\alpha$  抗体を硝子体内に投与してその効果の検討をした。

B. 研究方法

6-8 週齢のルイスラットに顕微鏡下で抗

TNF- $\alpha$  抗体 50ng/PBS 5  $\mu$ L を右眼硝子体内に投与した ( $n=10$ )。対照群は PBS を 5  $\mu$ L、同様に投与した ( $n=9$ )。24 時間後に合成網膜抗原由来ペプチド R16 と完全フロイドアジュバンドのエマルジョンを皮下に、また追加免疫として百日咳毒素 (PTX) 1  $\mu$ g を尾静脈内投与した。EAU は免疫後 1 週間ほどで発症して 14 日目にピークとなるため、免疫後 6、11、14 日目に臨床的重症度を観察した。

C. 研究結果

臨床的重症度は 6、11 日目には軽微であったが、14 日目では抗 TNF- $\alpha$  抗体を投与した右眼は平均 1.5 (SD 0.90)、治療していない左眼は

3.3(SD 0.67)であり、有意に軽症化した( $P < 0.01$ )。対照群では処置眼である右眼は2.6(SD 0.73)に対して、無処置眼である左眼は3.0(SD 0.71)で両眼間に差はなかった(図1)。

組織学的重症度では抗TNF- $\alpha$ 抗体投与眼である右眼は平均1.5(SD 0.76)であるのに対して、無処置の左眼は2.4(SD 0.84)であり、有意に軽症化した( $P < 0.01$ )。対照群では右眼は2.7(SD 0.71)に対して左眼は2.1(SD 1.05)であり、両眼に差はなかった。対照群ではむしろ投与眼である右眼の重症度が高く、手術操作によるものと考えられた(図2)。また、投与抗体が同日まで眼内に残存することを免疫組織学的に確認した。

#### D. 考察

抗TNF- $\alpha$ 抗体の硝子体内投与によりEAUは臨床的にも組織学的にも有意に軽症化した。

#### E. 結論

抗TNF- $\alpha$ 抗体の硝子体内投与は、難治性内眼炎の新たな治療手段として臨床応用が期待できると考えている。

#### 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

なし

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

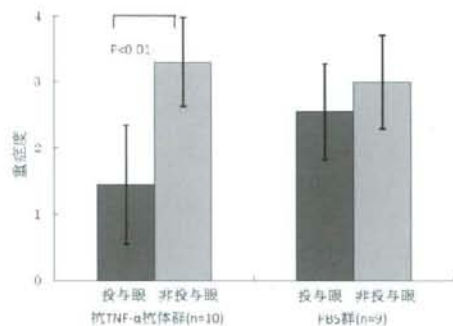


図1. 臨床的重症度

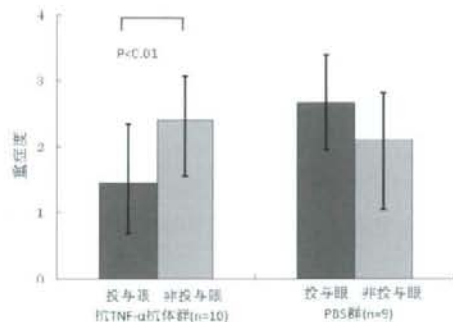


図2. 病理組織学的重症度

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

ベーチェット病の病態における IL-17 産生 T 細胞の役割に関する研究

研究分担者 桑名 正隆 慶應義塾大学医学部内科学教室  
安岡 秀剛 慶應義塾大学医学部内科学教室

研究要旨

近年、ヘルパーT細胞は従来の Th1/Th2 サブセット以外に、IL-17 を産生する Th17 の存在が報告され、注目されている。本研究ではベーチェット病の病態における IL-17 産生細胞の役割を追究することを目的とし、今回は末梢血漿中の IL-17 濃度を、ベーチェット病 27 例および健常人 23 例で比較検討した。その結果、血漿 IL-17 濃度はベーチェット病で高い傾向を認めた。さらに増悪期にステロイドなどにより治療し、軽快した 4 例について治療前後で血漿中 IL-17 濃度を比較した。血漿 IL-17 濃度は、3 例で治療により低下し、1 例で上昇していた。さらに治療により IL-17 濃度が低下していた 3 例で IL-17 産生細胞を反映する IL-23 レセプター (IL-23R) 陽性細胞の比率の変化を CD4 陽性 T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞でフローサイトメトリーを用いて検討した。その結果いずれの T 細胞サブセットにおいても IL-23R 陽性細胞の比率は低下していた。以上より、ベーチェット病では IL-17 産生 T 細胞が関連する疾患サブセットが存在し、CD4 陽性 T 細胞や  $\gamma\delta$ T 細胞がそのソースの一つである可能性が示唆された。

ト病の病態と類似した惹き起こす可能性が

A. 研究目的

ベーチェット病は原因不明の炎症性疾患であるが、病変部組織では好中球およびリンパ球の浸潤が特徴的である (1, 2)。これまでベーチェット病においてリンパ球に関するさまざまな検討が行われてきたが、多くは CD4 陽性 T 細胞に関するもので、特に、細胞性免疫と関連する Th1 にシフトすることが報告されてきた (3)。近年、CD4 陽性 T 細胞は Th1/Th2 サブセット以外に IL-17 産生を特徴とする Th17 と呼ばれる新たなサブセットが報告され、注目されている (4)。IL-17 は生体内ではリンパ球などで産生され、間葉系および上皮細胞に作用することにより、これらの細胞からケモカイン、プロテアーゼ、サイトカインの産生を誘導し、慢性炎症、好中球の遊走に関わることから (5)、ベーチェッ

ある。また Th17 はヒトにおいて強膜炎やぶどう膜炎でその割合が増加し、症状の軽快とともに減少することが報告されている (6)。一方 IL-17 は血液脳関門を形成する血管内皮細胞の細胞間結合分子の発現を低下させることにより血液脳関門を破綻させ、中枢神経病変の形成に関与すると報告されている (7)。これら病変の分布はベーチェット病の臓器病変の分布と一致している。以上の知見を元に、今回われわれは IL-17 産生 T 細胞のベーチェット病の病態における役割を追究することを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

対象は厚生労働省ベーチェット病診断基準

を満たすベーチェット病 27 例 (活動期 12 例、非活動期 15 例、男女比 4:5、平均年齢 45.1±10.9 歳、HLA-B51 陽性例 63%、完全型 14 例、眼病変を有する症例 22 例)、健康人 13 例 (平均年齢 39.5±8.6 歳、男女比 6:7) をコントロールとして用いた。

## 2. 血漿 IL-17 濃度の測定

ヘパリン採血により得られた全血より比重遠心法を用いて末梢血単核細胞 (PBMC) と血漿を分離した。分離した血漿は更なる遠心により血小板を除去して ELISA に用いた。血漿中の IL-17 濃度は Quantikine® (R&D systems) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて測定した。

## 3. IL-17 産生 T 細胞の検出

IL-17 産生細胞は IL-23R の発現を指標とした (8, 9)。IL-23R、CD4 および  $\gamma\delta$  T 細胞レセプターの発現はそれぞれの分子に対する蛍光標識抗体と反応させた後、FACSCaribur (Becton Dickinson) を用いたフローサイトメトリーにより解析した。

## 4. 統計学的解析

二群間の比較は Mann-Whitney U-test で検討し、 $p < 0.05$  を有意とした。

(倫理面への配慮)

すべての症例で本研究に関する説明を行い、文書によるインフォームドコンセントを取得した。

## C. 研究結果

ベーチェット病では、病変部で IL-17 の産生が亢進することにより病変形成に関与し、その結果、循環血中の IL-17 も上昇すると仮説した。そこでベーチェット病 27 例および健康人 13 例の血漿中における IL-17 濃度を ELISA により測定した。健康人と比較し、ベーチェット病で高い傾向が認められたが、2 群間で有意差は認めなかった (ベーチェット

病: 中央値 27.6 pg/ml, 25%-75%IQR: 25.9-30.7 pg/ml vs 健康人: 中央値 26.9 pg/ml, 25%-75%IQR: 26.6-30.0 pg/ml,  $p = 0.08$ )。IL-17 濃度が 30 pg/ml 以上の 7 例の特徴は活動性で異なり、活動期 BD4 例は全例眼病変を有し、うち 3 例が完全型であったのに対し、非活動期 BD3 例では全例不全型で、うち 2 例が眼病変のない症例であった。

さらに眼発作に対しステロイドや免疫抑制剤による治療を行い、軽快後も追跡し得た完全型ベーチェット 4 例について血漿 IL-17 濃度の変化を検討した。その結果、症状が軽快した 3 例で IL-17 濃度は低下、1 例で上昇していた。上昇していた 1 例はプレドニゾン、シクロスポリンで加療、低下していた 3 例はそれぞれプレドニゾンとコルヒチン、プレドニゾンとコルヒチン、コルヒチンとシクロスポリンで加療されていたことから、IL-17 濃度の変化と治療法の間には関連を認めなかった。ただし、低下例では全例がコルヒチンを投与されていた (図 1)。

血漿 IL-17 が上昇していた完全型ベーチェット 3 例で T 細胞が IL-17 のソースの一つである可能性 (8, 9) を検討するために、治療前後における CD4 陽性 T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞における IL-23R 陽性細胞の比率の変化をフローサイトメトリーで検討した。CD4 陽性 T 細胞および  $\gamma\delta$ T 細胞中の IL-23 陽性細胞の比率は症状の軽快により 3 例すべてで低下していた (図 2)。

## D. 考察

IL-17 は慢性炎症や炎症性細胞の遊走に関わるのみならず (5)、臨床的にもぶどう膜炎 (6) や中枢神経病変 (7) と関連することが報告されている。これらの知見をもとに、活

動期ベーチェット病患者では病変部局所で IL-17 の産生そのものが直接ベーチェット病の病態と関連する可能性を考えた。その結果、血漿中 IL-17 濃度は健常人と比較し、一部のベーチェット病患者で上昇を認めた。これらの結果はベーチェット病病変部局所で IL-17 の発現の亢進が末梢血に反映されている可能性を示唆した。

一方で、症状出現時と軽快時におけるベーチェット病での IL-17 濃度の比較では、追跡しえた 4 例のうち、3 例で低下していた。この結果は IL-17 が全てのベーチェット病患者の活動性に関連するのではなく、病態に IL-17 が関連する疾患サブセットが存在する可能性を示唆された。さらに血漿 IL-17 濃度が病勢の改善とともに低下していた 3 例では IL-23R 陽性 CD4 陽性 T 細胞および  $\gamma\delta$ T 細胞の比率が低下していた。この結果はこれらの細胞が IL-17 のソースの 1 つとなっている可能性を示唆した。しかしながら、本検討では症例数が少なかつたことからどのようなサブセットが IL-17 と関連するかは明確にならなかった。

これまで CD4 陽性 T 細胞は大きく Th1 および Th2 の 2 つのサブセットに分類されてきたが、近年 IL-17 を産生する Th17 が新たに報告された (4)。さらにこのサブセットは IFN- $\gamma$  と IL-17 の両方を産生する Th1/Th17 と呼ばれるサブセットと IL-17 のみを産生する Th17 と呼ばれるサブセットに分類される (10)。これまでベーチェット病では Th1 にシフトすることが指摘されているが (3)、この一部に Th1/Th17 が含まれている可能性があるかもしれない。

本検討はあくまで少数例での検討であり、かつ疾患コントロールの検討を行っていないことから、これらの現象がベーチェット病に特異的かは示されていない。また血漿

IL-17 濃度がベーチェット病の炎症局所で IL-17 産生を反映しているかも不明である。今後 多数例での検討や、組織を用いた IL-17 産生の検討が必要と考えられた。

#### E. 結論

ベーチェット病では IL-17 産生 T 細胞と関連するサブセットが存在する可能性が示された。

#### (文献)

- 1) Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behçet's disease. *N Engl J Med*. 1999; 341(17): 1284-1291.
- 2) Emmi L, Brugnolo F, Salvati G, Marchione T. Immunopathological aspects of Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 1995; 13(6): 687-691.
- 3) Frassanito MA, Dammacco R, Cafforio P, Dammacco F. Th1 polarization of the immune response in Behçet's disease: a putative pathogenetic role of interleukin-12. *Arthritis Rheum*. 1999; 42(9): 1967-1974.
- 4) Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, Harrington LE. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. *Annu Rev Immunol*. 2007; 25: 821-852.
- 5) Romagnani S. Human Th17 cells. *Arthritis Res Ther*. 2008; 10(2): 206.
- 6) Amadi-Obi A, Yu CR, Liu X, Mahdi RM, Clarke GL, Nussenblatt RB, Gery I, Lee YS, Egwuagu CE. TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1. *Nat Med*. 2007; 13(6): 711-718.

- 7) Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, Bernard M, Giuliani F, Arbour N, Becher B, Prat A. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med.* 2007; 13(10): 1173-1175.
- 8) Chen Z, Tato CM, Muul L, Laurence A, O'Shea JJ. Distinct regulation of interleukin-17 in human T helper lymphocytes. *Arthritis Rheum.* 2007; 56(9): 2936-2946.
- 9) Shibata K, Yamada H, Hara H, Kishihara K, Yoshikai Y. Resident Vdelta1+ gammadelta T cells control early infiltration of neutrophils after Escherichia coli infection via IL-17 production. *J Immunol.* 2007; 178(7): 4466-4472.
- 10) Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, Jarrossay D, Gattorno M, Lanzavecchia A, Sallusto F, Napolitani G. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol.* 2007; 8(6): 639-646.

F. 健康危険情報  
特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yasuoka H, Yamaguchi Y, Mizuki N, Nishida T, Kawakami Y, and Kuwana M. Preferential activation of circulating CD8<sup>+</sup> and gd T cells in patients with active Behçet's disease and HLA-B51. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2008; 26(4, suppl): S59-S63.

2. 桑名正隆: ベーチェット病への TNF 阻害療法の使用の実際. *Medical Practice* 25(8): 1425-1428, 2008.
3. 安岡秀剛, 桑名正隆: ベーチェット病における細胞傷害性 T 細胞の役割. *リンパ学* 31(2): 45-49, 2008.

2. 学会発表

1. 安岡秀剛, 桑名正隆: ベーチェット病における細胞傷害性 T 細胞の役割. 第 32 回日本リンパ学会総会 (東京). 2008.
6. (シンポジウム: 慢性炎症性疾患病態形成におけるリンパ球の関与)

H. 知的財産権の出願、登録状況  
特記すべきものなし。

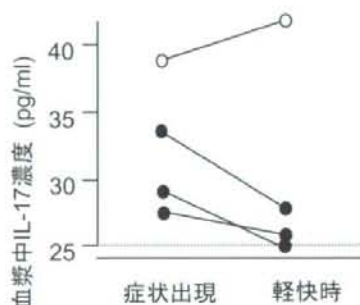


図 1. 眼発作の出現時および軽快時に追跡した 4 症例における末梢血血漿中 IL-17 濃度の変化。IL-17 濃度は 3 例で低下、1 例で上昇していた。



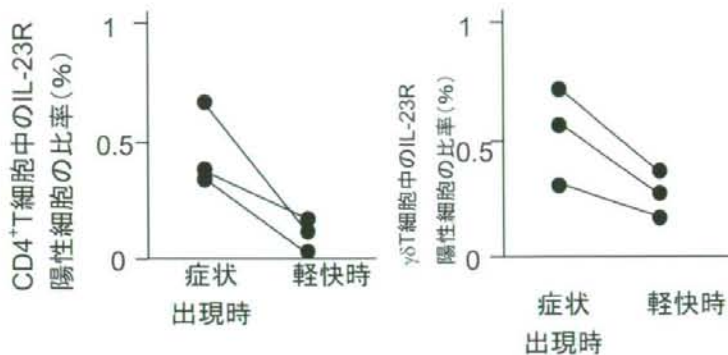


図2. 眼発作の出現時と比較し軽快時に血漿IL-17濃度が低下していた3症例における末梢血IL-23R陽性細胞の比率. CD4陽性T細胞および $\gamma\delta$ T細胞中のIL-23R細胞の比率は症状の軽快により低下していた.

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

ベーチェット病における IL-23 および SMAD2 の発現上昇

研究分担者 鈴木 登 聖マリアンナ医科大学 免疫学・病害動物学教室  
清水 潤 聖マリアンナ医科大学 免疫学・病害動物学教室  
金子史男 福島県立医科大学 皮膚科学教室  
金子 栄 島根県立病院 皮膚科

研究要旨

ベーチェット病における Th17 細胞軸の評価を行った。その結果、末梢血単核球 (PBMC) において、健常人に比較し IL-23 mRNA の発現上昇を認めた。また、同じく PBMC において核蛋白質 SMAD2 mRNA の有意差をもった上昇をみた。さらに皮膚病変局所において、IL-17 および IL-21 の局在を観察した。以上よりベーチェット病白血球の炎症惹起においては、IL-17/IL-23 サイトカインの関与が推察され、さらに SMAD 系シグナリングを介している可能性がある。

A. 研究目的

これまでにわれわれはベーチェット病の腸管および皮膚病変部で Th1 優位の免疫異常が起きており病態形成に関与している可能性を報告した。

しかし近年、いわゆる Th1 細胞関連と考えられていた脳・脊髄炎、関節炎の動物モデルでの、Th17 細胞の中心的な役割が相次いで報告された。したがって、ヒトベーチェット病においても Th17 細胞軸からの疾患再評価は急務と考えられる。

B. 研究方法

① 対象は活動性のあるベーチェット病患者 3 名、健常人 10 名。末梢血よりフィコール法により単核細胞 (PBMC) を分離、mRNA を抽出し、未刺激およびレクチン刺激下の IL-17、IL-17F、IL-21、IL-22、IL-23 および IL-23R、STAT3、Foxp3、SMAD2、SMAD3、ROR- $\gamma$ C mRNA を real time PCR 法を用いて半定量的に解析した。

② さらに上記とは異なるベーチェット病患

者 2 名の皮膚病変における IL-17、IL-17F、IL-21、IL-23 の局在を免疫組織学的に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヘルシンキ宣言 (2008 年ソウル WMA 総会にて修正) の精神に基づいて実施する。実施にあたっては横浜市立大学の規約に基づいて倫理委員会での承認を得た上で実施する。

C. 研究結果

① ベーチェット病患者では、未刺激、刺激下にかかわらず PBMC における測定し得た Th17 細胞関連 mRNA は、全般に健常人に比較し低値であった。その中で、IL-23 および SMAD2 mRNA の刺激後における明らかな上昇があり、SMAD2 においては有意差を認めた。

② BD 患者 1 名の皮膚病変組織において、細胞浸潤部位に IL-17、IL-21 陽性細胞を少数認めたが、その領域は異なっていた。

D. 考察

我々は、BD の末梢血、皮膚病変部において Th17 細胞および関連サイトカインの関与を示

唆した。その中で SMAD 蛋白 mRNA の発現上昇は、その上流である TGF- $\beta$  および IL-6 の検討を要する。その観点からの髄液所見の再検討も含め、今後の課題としたい。

2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
特記事項なし。

#### E. 結論

我々の検討においてもベーチェット病白血球の炎症惹起においては、諸報告の通り IL-17/IL-23 サイトカインの関与が推察され、さらに SMAD 系シグナリングを介している可能性がある。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. K.Nara, M.S. kurokawa, S.Chiba, H. Yoshikawa, S.sukikawa, T. Matsuda, N. Suzuki. Involvement of innate immunity in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease. *Clinical and Experimental Immunology* 152; 245-251: 2008

##### 2. 学会発表

1. 奈良和彦、黒川真奈絵、松田隆秀、鈴木登. 神経ベーチェット病における病変部 TNF $\alpha$  産生細胞の検討. 第 29 回日本炎症・再生医学会 東京 2008.7.8-10
2. Kazuhiko Nara, Manae Kurokawa, Tatehide Matsuda, Noboru Suzuki. microglia/macrophage may be responsible for the development of neuro-Behcet's disease. 第 52 回日本リウマチ学会総会・学術集会第 17 回国際リウマチシンポジウム 北海道 2008.4.20-4.23

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

##### 1. 特許取得

なし

小児発症ベーチェット病に関する研究

研究分担者	大野重昭	北海道大学大学院医学研究科炎症眼科学講座
研究協力者	海老原晶子	北海道大学大学院医学研究科眼科学分野
	南場研一	北海道大学大学院医学研究科眼科学分野
	北市伸義	北海道大学大学院医学研究科眼科学分野

研究要旨

日本での小児ベーチェット病の発症頻度は中東やヨーロッパ諸国と比較して少なく、その臨床病態についてはまだよく知られていない。北海道大学病院眼科で平成5年以降の16年間にベーチェット病と診断された163人のうち、15歳以下の発症者は3例のみであった。今回我々はそのうち最近3年以内に初診した2例の臨床像について報告した。小児ベーチェット病2症例における眼炎症所見は成人発症例とほぼ同じであり、視力低下をきたす重篤なものであった。陰部潰瘍はみられなかった。インフリキシマブ治療が発作抑制に有効であった。今後、副作用の発現や効果の減弱など長期的な有用性についてはさらに経過観察が必要であると考えられた。

A. 研究目的

日本での小児ベーチェット病の発症頻度は中東やヨーロッパ諸国と比較して少なく、その臨床病態についてはまだよく知られていない。北海道大学病院眼科で平成5年以降の16年間にベーチェット病と診断された163人のうち、15歳以下の発症者は3例のみであった。今回我々はそのうち最近3年以内に初診した2例の臨床像について報告する。

B. 研究方法

平成5年以降の16年間にベーチェット病と診断された163人のうち、15歳以下の発症者を調査したところ3例であった。そのうち最近3年以内に初診した2例の臨床像についてカルテの記載を元に調査した。

C. 研究結果

[症例1] 9歳男性。左視朦感を主訴に近医受診。汎ぶどう膜炎がみられたために当科を紹介され初診。初診時視力右(1.2)、左(1.0)。右眼に硝子体混濁および網膜浸出斑、網膜出血が、左眼に前房炎症および硝子体混濁がみられた。蛍光眼底造影では両眼網膜血管からシダ状の蛍光漏出がみられた。右眼の浸出斑、出血を含め炎症所見は点眼治療のみで速やかに消失したが、その後も同様の眼炎症発作を繰り返した。以前から口腔内アフタ性潰瘍を繰り返しており、上記の特徴的な眼所見と合わせてベーチェット病と診断された。その後も視力低下を伴う眼炎症発作が頻回に生じるためインフリキシマブ治療を導入した。導入後は眼炎症発作なく経過している。

[症例2] 15歳男性。両視朦感を主訴に近医受診。汎ぶどう膜炎がみられ、当科を紹介された。