

1.57 (n=10)と投与群で有意に低下していた。他の type I NKT 細胞リガンドの投与では得られなかった軽症化が RCI-56 により確認された。RCI-56 の刺激による NKT 細胞からのサイトカイン産生を *in vivo* で  $\alpha$ -galactosylceramide ( $\alpha$ GC) と比較すると、IFN- $\gamma$  産生で RCI-56 >  $\alpha$ -GC、IL-22 産生で RCI-56 <<  $\alpha$ -GC、IL-2、IL-6 産生で RCI-56 <  $\alpha$ -GC であった。また、EAU 惹起抗原の感作後 9 日目の所属リンパ節 T 細胞分画で調べたところ、抗原存在下における増殖反応 ( $^3$ H-thymidine 取り込みで評価) は RCI-56 投与群と vehicle 投与 (対照) 群間で差は認められなかった。しかし、培養上清中のサイトカイン産生で見ると、RCI-56 投与群では対照群と比較して有意に IL-22、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-17 産生量が低下、また IL-6 も低下傾向にあった。さらに RCI-56 投与した抗原感作群では所属リンパ節中の type I NKT 細胞の増加を認めた。

- ② RCI-56 の発症時投与に関して検討したところ、組織病理スコアの悪化 (平均スコア vehicle: 1.0 vs RCI-56: 2.4) を誘導し、投与時期は極めて重要なファクターとなることが判明した。通常は観察されないスコア 4 (網膜出血) が 3 眼もあったことは特記すべきことである。
- ③②の結果を受けて、RCI-56、 $\alpha$ -GC、NKT 2 リガンド 3 種について発症時投与を行って感作後 21 日の病理組織スコアを比較した (図 1)。その結果、NKT 2 リガンドを発症時 (=治療的) 投与レジメンで投与しても、EAU スコアの軽症化を誘導出来ることが判明した。この時、抗原特異的 T 細胞応答では IL-5、-2、-17、-22 の産生低下が認められた。所属リ

ンパ節 T 細胞中の全 CD 4<sup>+</sup> T 細胞画分および、抗原特異的 T 細胞を tetramer にて染色、解析した結果では対照群と有意差はなかったが、眼球に浸潤したリンパ球中の抗原特異的 T 細胞の割合を tetramer 染色で調べると、NKT 2 偏倚リガンド投与群では tetramer<sup>+</sup> T 細胞の減少傾向が認められた。

#### D. 考察

以前得られた NKT 細胞欠損マウスで EAU の臨床スコアが高く、重症化するという結果<sup>3</sup> はぶどう膜炎において NKT 細胞が何らかの抑制的役割を果たしていることを示唆する。type I NKT 細胞のプロトタイプリガンドである  $\alpha$ -GC で NKT 細胞を活性化しても EAU は軽症化しなかったが<sup>3</sup>、RCI-56 (予防的投与) では軽症化が達成された。Caspiらは  $\alpha$ -CGC を投与して同様の結果を得ているが<sup>9</sup>、 $\alpha$ -CGC はマウスにおいて IFN- $\gamma$  を強く誘導する NKT 1 リガンドである。RCI-56 も NKT 細胞からの IFN- $\gamma$  を介して Th 17 の誘導を抑制することで IL-17、IL-22 産生の低下を来していることが奏効メカニズムと考えられる (図 2)。しかし、感作時の投与は予防であって治療に応用することは困難である。そこで、発症時に投与しても軽症化が誘導されるリガンドとして NKT 2 リガンドが見出された (予防的投与でも有効である。平均病理組織スコア vehicle; 1.7 vs NKT 2; 0.7)。NKT 2 リガンドの投与で、EAU で病態に深く関わると考えられているサイトカイン (IL-17、-22 など) の低下傾向が認められ、EAU の軽症化との関連が推測される。しかし、IL-22 に関しては、ベーチェット病寛解期に高い<sup>10</sup>、

マウス EAU の系で IL-22 投与により調節性の抗原提示細胞を誘導することで軽症化が生じる<sup>11</sup> との報告があり、beneficial な作用を有している可能性がある。一方、ベーチェット病患者の Th 22 に関して必ずしも保護的と考えられない部分もあり<sup>12</sup>、マウスモデルでの感作時・発症時など投与タイミングを変えた、IL-22 に対する抗体投与や siRNA による中和・発現抑制実験等も併せて今後検討して行くことが望まれる。

また、これまで増殖反応や産生サイトカインの増減やシフトのみで解析していた hIRBP 特異的 T 細胞の応答を tetramer で直接トラッキング出来るようになった。抗原として使用している hIRBP<sub>1-20</sub> は、この配列中に I-A<sup>b</sup> 結合ペプチドと K<sup>b</sup> 結合ペプチドを含む shared epitope であり<sup>13</sup>、感作後に CD 4<sup>+</sup> T、CD 8<sup>+</sup> T 細胞の両方を追跡出来る可能性がある。今後は、NKT 2 リガンドの投与によって抗原特異的 CD 4<sup>+</sup>/CD 8<sup>+</sup> T 細胞の病変部（眼球）や所属リンパ節・脾臓等における動態をより詳細に明らかにする予定である。特に所属リンパ節から眼球へ抗原特異的 T 細胞が移行する際に重要なケモカイン/ケモカイン受容体の発現を解析する。また所属リンパ節において、リガンドによって活性化された NKT 細胞がどのように抗原特異的 T 細胞に作用するのか調べ、奏効メカニズムを明らかにしたい。

#### E. 結論

NKT 細胞を標的としてぶどう膜炎の炎症制御を行うことが可能である、発症時に使用可能な NKT 2 リガンドを見出した。

#### References

1. Van Kaer L. *Curr Opin Immunol* 2007; 19: 354-364.
2. Sonoda K-H, et al. *J Exp Med* 1999; 190, 1215-26.
3. 小野江和則他. 厚生労働省科学研究費補助金. 難治性疾患克服研究事業「ベーチェット病に関する調査研究」H 17~19 総合研究報告書. 2008; 77~80.
4. Jahng AW, et al. *J Exp Med* 2001; 194, 1789-99.
5. Pauwels N, et al. *Org Biomol Chem* 2011; 9: 8413-21.
6. Tarrant TK et al. *J Immunol* 1998; 161: 122-7.
7. Tashiro T, et al. *Int Immunol* 2010; 22: 319-28.
8. NIH Tetramer Core Facility のホームページ参照  
<http://tetramer.yerkes.emory.edu/support/technical>
9. Grajewski RS, et al. *J Immunol* 2008; 181 (7): 491-7.
10. Yasuoka H & Kuwana M. (ベーチェット病班会議 H 25 報告集)
11. Ke et al. *J Immunol* 2011; 187: 2130-9.
12. Sugita S et al. *J Immunol* 2013; 190 (11): 5799-808.
13. Shao H, et al. *J Immunol* 2005; 175: 1851-7.
- 14.

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表 9 件

原著論文による発表 0件

それ以外（レビュー等）の発表 11件  
論文発表

1. 岩渕和也：NKT細胞の分化と機能-前編. 北里医学 2011; 41(2): 99-109.
  2. 岩渕和也：NKT細胞の分化と機能-後編. 北里医学 2012; 42(1): 19-31.
  3. 岩渕和也：自己免疫性ぶどう膜炎の発症とオステオポンチン、臨床免疫・アレルギー科 2012; 58 (1): 38-45.
  4. 佐藤 雅、岩渕和也：Type II NKT細胞と肥満、医学のあゆみ 2012; 243 (4): 322-3.
  5. 佐藤 雅、岩渕和也：内臓脂肪症候群とNKT細胞、小特集 生活習慣病とNKT細胞-病態モジュレーター的面から. 医学のあゆみ 2013; 246 (3): 215-20.
  6. 岩渕和也：NKT細胞による動脈硬化症と肥満発症機序、特集 注目される natural killer T (NKT)細胞. 血液フロンティア 2013; 23 (7): 941-8.
- 学会発表
1. Satoh M, Eshima K, Fujii S, Nakayama T, Taniguchi M, Ishimori N, Iwabuchi K. Type II NKT cells operate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation and steatohepatitis. 第40回日本免疫学会学術集会 2011. 11. 27 (Chiba)
  2. Hirata N, Yanagawa Y, Iwabuchi K, Satoh M, Ogura H, Onoé K, Noguchi M. TNF- $\alpha$  drives IL-10 production in murine dendritic cells. 第40回日本免疫学会学術集会 2011. 11. 27 (Chiba)
  3. 岩渕和也. MR1欠損はApoEノックアウトマウスの動脈硬化症の病巣進展を促進する、第101回日本病理学会総会（東京）. 2012.4.28.
  4. 岩渕和也、食餌誘導性肥満の進展におけるNKT細胞の促進的役割、第52回日本リンパ網内系学会総会（福島）. 2012.6.16.
  5. 江島耕二、篠原信賢、岩渕和也、NF- $\kappa$ B-inducing kinase in non-hematopoietic cells is required for maintenance of normal number of  $\gamma\delta$  T cells in periphery. 第22回京都Tセルカンファレンス（京都）. 2012. 7.7.
  6. 竹内恵美子、竹内康雄、江島耕二、篠原信賢、岩渕和也、TCR/MHC interactionを介したT細胞による自己反応性B細胞の監視、第22回京都Tセルカンファレンス（京都）. 2012. 7.7.
  7. 岩渕和也、ベージュット病モデル動物の免疫異常とその制御、第40回日本臨床免疫学会総会（東京）. 2012.9.28.
  8. Eshima K, Shinohara N, Iwabuchi K. Spontaneous increase of Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> cells *alymphoplasia* mouse lacking functional NF- $\kappa$ B-inducing kinase. 第41回日本免疫学会総会・学術総会（神戸）. 2012.12.5.
  9. Satoh M, Eshima K, Tamauchi H, Takeuchi E, Iwabuchi K. Characterization of non-invariant NKT cells in visceral adipose tissue. 第41回日本免疫学会総会・学術総会（神戸）. 2012.12.7.
  10. Takeuchi E, Takeuchi Y, Shinohara N, Iwabuchi K. Dysfunction of selective suppression of auto-antibody production in SLE mice and reconstruction of this mechanism by induction of bone-marrow chimerism. 第41回日本免疫学会総会・学術総会（神戸）.

- 2012.12.7.
11. 岩渕和也、マウス実験的ぶどう膜炎 (EAU) における NKT 細胞の役割、第 102 回日本病理学会総会 (札幌). 2013.6.7.
  12. Satoh M, Eshima K, Takeuchi E, Iwabuchi K. Characterization of non-invariant NKT cells in visceral adipose tissue. The 42<sup>nd</sup> Ann Meeting of the JSI 2013. (Chiba). 2013.12.11.
  13. Shimano K, Sato M, Okuno H, Gilfillan S, Miyake S, Yamamura T, Ogura H, Iwabuchi K. Atherosclerotic lesion development in MR1/apolipoprotein E-deficient mice. The 42<sup>nd</sup> Ann Meeting of the JSI 2013. (Chiba). 2013.12.11.
  14. Okuno H, Sato M, Eshima K, Tamauchi H, Kazuya Iwabuchi K. The role of T cell subsets in the development of nickel-induced allergic contact dermatitis. The 42<sup>nd</sup> Ann Meeting of the JSI 2013. (Chiba). 2013.12.11.
- 2) 海外
- |                  |      |
|------------------|------|
| 口頭発表             | 1 件  |
| 原著論文による発表        | 12 件 |
| それ以外 (レビュー等) の発表 | 7 件  |
- 論文発表
1. Hirata N, Ogura H, Satoh M, Noguchi M, Matsumoto M, Togashi H, Onoe K, Iwabuchi K. The role of tumor necrosis factor- $\alpha$  for interleukin-10 production by murine dendritic cells. *Cell Immunol* 2011; 266 (2): 165-71.
  2. Kurotaki D, Kon S, Bae K, Ito K, Matsui Y, Nakayama Y, Kanayama M, Kimura C, Narita Y, Nishimura T, Iwabuchi K, Mack M, van Rooijen N, Sakaguchi S, Uede T, Morimoto J. CSF-1-dependent red pulp macrophages regulate CD4 T cell responses. *J Immunol* 2011; 186 (4): 2229-2237.
  3. Tamauchi H, Amoh Y, Ito M, Terashima M, Masuzawa M, Habu S, Katsuoka K, Iwabuchi K. GATA-3 regulates contact hyperresponsiveness in a murine model of allergic dermatitis. *Immunobiol* 2012; 217: 446-54.
  4. Eshima K, Chiba S, Suzuki H, Kokubo K, Kobayashi H, Iizuka M, Iwabuchi K, Shinohara N. Ectopic expression of eomesodermin renders CD4<sup>+</sup>Th cells cytotoxic by activating both perforin- and FasL pathway. *ImmunolLett* 2012; 144 (1-2): 7-15.
  5. Satoh M, Andoh Y, Clingan CS, Ogura H, Fujii S, Eshima K, Nakayama T, Taniguchi M, Hirata N, Ishimori N, Tsutsui H, Onoe K, Iwabuchi K. Type II NKT cells stimulate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation, steatohepatitis and insulin resistance. *PLoS ONE* 2012; 7 (2): e30568.
  6. Tiwananthagorn S, Iwabuchi K, Ato M, Sakurai T, Kato H, Katakura K. Involvement of CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells in persistence of *Leishmaniadonovaniin* the liver of alymphoplastically/aly mice. *PLoS Neg Trop Dis* 2012; 6 (8): e1798, 2012.
  7. Sobirin MA, Kinugawa S, Takahashi M, Fukushima A, Homma T, Ono T, Hirabayashi K, Suga T, Azalia P,

- Takada S, Taniguchi M, Nakayama T, Ishimori N, Iwabuchi K, Tsutsui H. The activation of natural killer T cells ameliorates post-infarct cardiac remodeling and failure in mice. *Circ Res* 111 (8): 1037-47, 2012.
8. Iwabuchi K, Satoh M. 2013. Invariant NKT cell serves as a novel therapeutic target for control of obesity. *ClinLipidol* 8 (1): 51-4, 2013.
  9. Andoh Y, Ogura H, Satoh M, Shimano K, Okuno H, Fujii S, Ishimori N, Eshima K, Tamauchi H, Otani T, Nakai Y, Van Kaer L, Tsutsui H, Ono é K, Iwabuchi K. Natural killer T cells are required for lipopolysaccharide-mediated enhancement of atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Immunobiol* 218(4): 561-9.
  10. Homma T, Kinugawa S, Takahashi M, Sobirin MA, Saito A, Fukushima A, Suga T, Takada S, Kadoguchi T, Masaki Y, Furihata T, Taniguchi M, Nakayama T, Ishimori N, Iwabuchi K, Tsutsui H. Activation of invariant natural killer T cells by  $\alpha$ -galactosylceramide ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in mice. *J Mol Cell Cardiol* 62: 179-188, 2013.
  11. Albiero M, Rattazzi M, Menegazzo L, Boscaro E, Cappellari R, Pagnin E, Bertacco E, Poncina N, Dyar K, Ciciliot S, Iwabuchi K, Million R, Arrigoni G, Kraenkel N, Landmesser U, Agostini C, Avogaro A, Fadini GP. Myeloid calcifying cells promote atherosclerotic calcification via paracrine activity and allograft inflammatory factor-1 over-expression. *Basic Res Cardiol* 2013; 108 (4): 368. doi: 10.1007/s 00395-013-0368-7.
  12. Eshima K, Okabe M, Kajiura S, Noma H, Shinohara N, Iwabuchi K. Significant involvement of NF- $\kappa$ B-inducing kinase in proper differentiation of  $\alpha\beta$  and  $\gamma\delta$  T cells. *Immunology* 2013; doi: 10.1111/imm.12186.
  13. Ito S, Iwaki S, Kondo R, Satoh M, Iwabuchi K, Fujii S. TNF- $\alpha$  production in NKT cell hybridoma is regulated by sphingosine-1-phosphate: implications for atherosclerosis. *Coron Artery Dis* (in press)
- 学会発表
1. Satoh M, Andoh Y, Clingan CS, Ogura H, Fujii S, Nakayama T, Taniguchi M, Ishimori N, Tsutsui H, Van Kaer L, Ono é K, Iwabuchi K. Type II NKT cells operate diet-induced obesity by mediating adipose tissue inflammation, steatohepatitis and insulin resistance. The 6<sup>th</sup> Intl. Symposium on CD1/NKT cells 2011. 9. 23 (Chicago, USA)
  2. Iwabuchi K, Sato M, Eshima K, Gilfillan S, Shimamura M, Miyake S, Yamamura T, Onoe K, Ogura H. Development of atherosclerotic lesion is aggravated in MR1<sup>-/-</sup> mice - an ameliorating role of MR1-restricted NKT cells in atherosclerosis - The 6<sup>th</sup> Intl. Symposium on CD1/NKT cells 2011. 9. 23 (Chicago, USA)
  3. Iwabuchi K, Iwata D, Satoh M, Ohno

- S, Ishida S, Uede T, Ono é K. Osteopontin blockade ameliorates experimental autoimmune uveo- retinitis model in mice. Scientific session 2 - Immunology and Genetics. 15<sup>th</sup> International Conderence on Behçet's Disease (Yokohama). 2012.7.
4. Satoh M, Namba K-I, Kitaichi N, Ohno S, Ishida S, Ono é K, Taniguchi, M, Yamamura T, Van Kaer L, Sonoda K-H, Iwabuchi K. The preventive effect of a novel ligand for natural killer T cells in the development of experimental autoimmune uveo- retinitis. The 15<sup>th</sup> International Conference on Behçet's Disease (Yokohama). 2012.7.15.
5. Satoh M, Namba K-I, Kitaichi N, Taniguchi M, Van Kaer L, Sonoda K-H, Iwabuchi K. The preventive effect of a novel ligand for natural killer T cells in the development of experimental autoimmune uveo- retinitis in mice. 6<sup>th</sup> Intl Workshop Kyoto T Cell Conf (Kyoto). 2013. 6. 5.
6. Iwabuchi K, Sato M, Eshima K, Gilfillan S, Miyake S, Yamamura T, Onoe K, Ogura H. Development of atherosclerotic lesion is aggravated in MR1<sup>-/-</sup> mice - an ameliorating role of MR1-restricted NKT cells in atherosclerosis- The 7<sup>th</sup> IntlSymposium on CD1/NKT cells. (Tours, France). 2013. 9. 14.
7. Satoh M, Eshima K, Takeuchi E, Iwabuchi K. Characterization of non-invariant NKT cells in visceral adipose tissue. The 7<sup>th</sup> Intl. Symposium

on CD1/NKT cells. (Tours, France). 2013. 9. 14.

#### 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

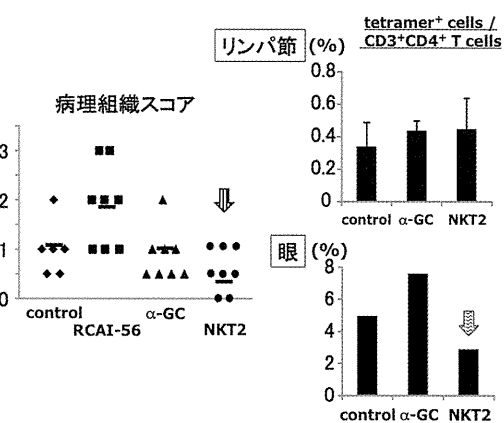


図1. NKT2リガンド投与によるEAU軽症化

病理組織スコア (左パネル) と hIRBP<sub>3-13</sub>/I-A<sup>b</sup> tetramer<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T細胞の割合 (右上グラフ: 所属リンパ節; 右下グラフ: 眼球)。眼球内浸潤T細胞で低下が認められる。

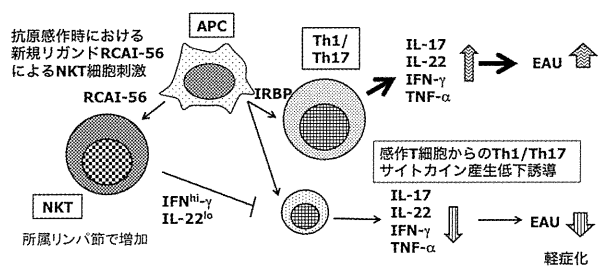


図2. RCAI-56 予防的投与の奏効メカニズム

予防的投与によって軽症化するマウスでは、所属リンパ節のT細胞応答で産生するサイトカインのうちIL-17、IL-22、IFN- $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ などの低下が認められる。

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 CD 4+T 細胞の IL-23/IL-23 受容体による分化制御」

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

研究要旨

われわれは 20-22 年度班研究において、ベーチェット病 (BD) における Th 17 細胞の関連について検討を開始した。その結果、末梢血単核球 (PBMC) において、健常人に比較し TGF- $\beta$  受容体、Smad 2 遺伝子の発現亢進、IL-23 受容体、ROR-C 遺伝子の減少傾向をみた。また、末梢血における Th 17 細胞の増加および Th 1 細胞の減少と、ナイーブ CD 4+T 細胞における Th 1 および Th 17 誘導環境における IFN  $\gamma$  および IL-17 遺伝子それぞれの発現増強を観察し、BD におけるオートクライン的な Th 17 の過剰反応の存在を推察した。そこで 23-25 年度ではメモリー CD 4+T 細胞を対象にして、Th 17 細胞の維持に必須である IL-23/IL-23 受容体の動態観察及びその制御を試みた。その結果、BD 生体内で観察される、高 Th 17 細胞頻度および低 Th 1 細胞頻度は、IL-23 存在下でビトロでの培養後も維持することができた。Th 17 細胞頻度は IL-23 受容体陽性細胞頻度と直線相関したが、上記培養条件下でその相関は消失した。以上のことより IL-23/IL-23 受容体の相互作用は、BD の CD 4+T 細胞分化に対して高度に影響を及ぼしていると推察する。

A. 研究目的

われわれは 20-22 年度班研究において、ベーチェット病 (BD) における Th 17 細胞の関連について検討を開始した。その結果、末梢血単核球 (PBMC) において、健常人に比較し TGF- $\beta$  受容体、Smad 2 遺伝子の発現亢進、IL-23 受容体、ROR-C 遺伝子の減少傾向をみた。また、末梢血における Th 17 細胞の増加および Th 1 細胞の減少と、ナイーブ CD 4+T 細胞に IL-12 および IL-23 を添加することによって、IFN  $\gamma$  および IL-17 遺伝子それぞれの発現増強を観察し、BD におけるオートクライン的な Th 17 の過剰反応の存在を推察した。

そこで 23-25 年度ではメモリー CD 4+T 細

胞を対象にして、Th 17 細胞の維持に必須である IL-23/IL-23 受容体の動態観察及びその制御を試みた。

さらには近年、IL-12、IL-23、IL-27、IL-35 の 4 サイトカインは、それぞれの受容体および細胞シグナルに多くの共有部分が存在することより IL-12 ファミリーと称されるようになってきている。このファミリーの T 細胞分化に与える影響は、炎症惹起から抑制まで多岐にわたることも徐々に明らかになってきた。そこで、IL-12、IL-23 に加え IL-35 の CD 4+T 細胞分化に対する影響も観察した。



## B. 研究方法

患者(n=6)および健常人(n=7)よりメモリーCD4+T細胞を採取。IL-12、IL-23、IL-35、抗IL-23抗体(p19)およびJAK阻害剤の存在下で培養し、IL-23受容体発現量、IFN $\gamma$ およびIL-17の産生量をフローサイトメーターで観察。

さらに同細胞におけるTh17関連遺伝子(IFN $\gamma$ 、IL-17、IL-23受容体、RORC、Smad2)発現を、リアルタイムPCRで観察した。

統計処理はWilcoxon検定を用い、 $p<0.05$ で有意とした。

(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、聖マリアンナ医科大学倫理委員会での承認を得ている。

## C. 研究結果

細胞内サイトカイン産生に関しては健常人に比較しBDにおいて、IL-12ファミリーサイトカインそれぞれの刺激でTh17細胞頻度は上昇傾向にあったが、IL-23および抗IL-23抗体の存在下で有意差を持った。一方、Th1細胞はIL-23、IL-35、抗IL-23抗体、JAK阻害剤の存在でBDにおいて有意に減少した。また、Th17細胞由来で高い病原性を持つとされるIFN $\gamma$ 産生Th17細胞頻度は、採取直後はBDで高い傾向にあったが( $P=0.054$ )、培養後はIL-12およびIL-35の存在で逆に減少した。Th17細胞頻度とIL-23受容体陽性細胞頻度の間には強い直線相関がBD群でのみ観察されたが、Th1細胞には相関は見られなかった。

遺伝子発現では、RORCがBDにおいて

IL-12ファミリーサイトカインの存在下全般で高値傾向にあったが、抗IL-23抗体にて有意に上昇していた。その他の結果も省みて、この抗体は刺激性に働いているものと考えた。

## D. 考察

IL-12ファミリーサイトカインによる刺激培養試験によって、ある程度までBDのCD4+T細胞異常をビトロで再現できているものとする。またBDにおけるTh17細胞増加は、IL-23受容体の増加によるものとする推察された。

IL-12ファミリーサイトカインの産生・制御に果たす役割が大きいと考えられているのが、消化管免疫と腸内細菌との相互作用である。近年次世代シーケンサーを用いた腸内細菌叢解析であるメタゲノミクスが進歩し、疾患との関連が明らかになりつつある。我々の研究機関においてもこの技術を用いた腸内細菌叢研究を開始しており、BDにおける新規病態解析法や新規治療方法の開発を目指している。

## E. 結論

BDではIL-23/IL-23受容体の相互作用がTh17細胞の増加に関与しているものと考えられる。

## F. 健康危険情報

特記事項なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Shimizu J, Kaneko F, Suzuki N. Skewed helper T cell responses to IL-12 family cytokines produced by antigen presenting cells and the genetic background in Behcet's Disease.

Genetics Res Int 2013 In press.

2. Shimizu J, Izumi T, Suzuki N. Aberrant activation of Heat Shock Protein 60/65 reactive T cells in patients with Behcet's Disease. Autoimmune Dis. doi:10.1155/2012/105205, 2012.
3. Shimizu J, Izumi T, Arimitsu N, Fujiwara N, Ueda Y, Wakisaka S, Yoshikawa H, Kaneko F, Suzuki T, Takai K, Suzuki N. Skewed TGF $\beta$ /Smad signaling pathway of T cells in patients with Behcet's disease. Clin Exp Rheumatol. 30(Suppl.72), S35-S39, 2012.
4. Shimizu J, Takai K, Fujiwara N, Arimitsu N, Ueda Y, Wakisaka S, Yoshikawa H, Kaneko F, Suzuki T, Suzuki N. Excessive CD4+ T cells co-expressing interleukin-17 and interferon- $\gamma$  in patients with Behcet's disease. Clin Exp Immunol.168: 68-74, 2012.

## 2. 学会発表

1. 清水潤、鈴木登. ベーチェット病リンパ球における Th17 細胞関連サイトカインと IL-23 受容体の動態 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会
2. 清水潤、鈴木登. ベーチェット病における IL-17+ IFN $\gamma$ + CD4+細胞の存在. 第56回日本リウマチ学会総会・学術総会(東京)
3. Shimizu J, Kaneko F, Kaneko S, Suzuki N. Simultaneous production of IL-17 and IFN $\gamma$  in CD4+ T cells with Behcet's disease. 15th International Congress on Behcet's

Disease. 2012

4. Shimizu J, Kaneko F, Kaneko S, Suzuki N. Role of TGF $\beta$ /Smad pathway in T cell functions in patients with Behcet's disease. 15th International Congress on Behcet's Disease. 2012
5. 清水潤、鈴木登. ベーチェット病における CD4 T 細胞分化異常 第55回日本リウマチ学会総会・学術集会

## 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  
特記事項なし。

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

ベーチェット病の病態と Th 17 および Th 22 の関連について

研究分担者 桑名 正隆 慶應義塾大学医学部リウマチ内科  
研究協力者 安岡 秀剛 慶應義塾大学医学部リウマチ内科  
竹内 勤 慶應義塾大学医学部リウマチ内科

研究要旨

Th 17 と Th 22 は最近報告された T 細胞サブセットで、Th 22 は IL-22 を産生するが、IL-17 産生がない点が Th 17 と異なる。生体内では IL-22 は抗菌タンパクの産生やプロテアーゼ産生を介し組織障害からの保護する役割を持つが、IL-17 はケモカインやサイトカインの誘導を介して炎症を誘導する。本研究では Th 17 および Th 22 のベーチェット病 (BD) の病態との関連について追究した。対象は BD 23 例（活動期 12 例、非活動期 11 例）、健常人 13 例。血漿 IL-17 濃度は、健常人と比較し活動期 BD で高値であったのに対し、血漿 IL-22 濃度は活動期 BD で健常人、非活動期に比べて低い傾向を認めた。また IL-17 と IL-22 濃度の相関を調べると、活動期では正、非活動期は負の相関の傾向を示し、活動期 BD では Th 17、非活動期 BD では Th 22 へのシフトが示唆された。末梢血 CD 4<sup>+</sup> T 細胞中の Th 17 サブセット、Th 1/Th 17 サブセットの比率は非活動期、活動期 BD で健常人よりも高い傾向があった。一方、Th 22 サブセットの比率は非活動期 BD で健常人および活動期 BD と比較し有意に高値であった(それぞれ  $P < 0.05$ )。BD の治療前後で経過を観察しえた 4 例では治療後の非活動期に Th 22 比率が上昇した。IL-22 で誘導される抗菌タンパク lipocalin-2 の血漿中の濃度は非活動期例では血漿 IL-22 濃度と正に相関していた。以上より、BD では Th 22 が非活動期と関連する可能性が考えられ、Th 17 と異なる挙動を示した。

A. 研究目的

ベーチェット病(BD)は原因不明の炎症性疾患であるが、病変部組織ではリンパ球や好中球などの炎症性細胞の浸潤が認められ、これらが病態に関与していると考えられている。これまで BD では CD 4<sup>+</sup>T 細胞について多くの検討が行われ、細胞性免疫を誘導する Th 1 へのシフトが報告されている。

しかし、最近、IL-17 産生を特徴とする Th 17 および IL-22 産生を特徴とする Th 22 の存在が報告された。Th 17 は様々なサイトカインを産生するが、IL-17 以外に IL-22 も

産生する。一方、Th 22 は IL-22 を産生するものの IL-17 は産生しない。IL-17 は上皮細胞や血管内皮細胞からのケモカインやサイトカインの産生を誘導し、好中球の遊走を促して炎症に関与するとされ、BD 病態を促進する可能性がある。一方、IL-22 は IL-10 ファミリーに属するサイトカインの一つで、T 細胞、NK 細胞、NK-T 細胞などのリンパ球および上皮細胞で産生される。IL-22 のレセプターは主に上皮細胞に発現し、IL-22 の刺激を介して lipocalin、 $\beta$ -defencin や S 100 などの抗菌タンパクの産生や再生の促進、組織

傷害の保護に関わることから、BD 病態に対し抑制的に働く可能性がある。そこで Th 17 および Th 22 の BD の病態との関連について追究した。

## B. 研究方法

### 1. 対象

厚生労働省 BD 診断基準を満たす BD 23 例。健常人 13 例を対照として用いた。BD 患者の臨床情報はカルテより履歴的に収集した。BD 患者の臨床特徴を表 1 に示す。

### 2. 血漿 IL-22、IL-17 および lipocalin-2 濃度の測定

血漿はヘパリン採血した末梢血を遠心し、分離した。血漿 IL-17、IL-22 および lipocalin-2 濃度の測定は ELISA (R&D systems) を用いた。

### 3. 末梢血 CD 4<sup>+</sup>T 細胞中の Th 17、Th 1/Th 17 および Th 22 の検出

末梢血より比重遠心法で分離した末梢血単核球を用い、ケモカインレセプターの発現により CD 4<sup>+</sup>CCR 6<sup>+</sup>CCR 4<sup>+</sup>を Th 17、CD 4<sup>+</sup>CCR 6<sup>+</sup>CXCR 3<sup>+</sup>を Th 1/Th 17、CD 4<sup>+</sup>CCR 6<sup>+</sup>CCR 10<sup>+</sup>細胞を Th 22 と定義し、フローサイトメトリーにより検出した。それぞれ細胞表面の抗原は抗 CD 4 抗体(Beckman Coulter)、抗 CCR 6 抗体 (BD pharmingen)、抗 CCR 4 抗体、抗 CXCR 3 抗体、抗 CCR 10 抗体(R&D systems)を用いて検出し、末梢血 CD 4<sup>+</sup>T 細胞中の Th 17、Th 1/Th 17、Th 22 の比率を算出した。

### 3. 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)

本研究内容は学内の倫理委員会で承認され、すべての症例で事前に文書によるインフォ-

ムドコンセントを取得した。

## C. 研究結果

### 1) 血漿 IL-22 と IL-17 の濃度

血漿 IL-17 濃度は、健常人と比較し活動期 BD で高値であった ( $27.2 \pm 1.3$  pg/ml vs  $29.7 \pm 4.0$  pg/ml,  $P < 0.05$ ) のに対し (図 1)、IL-22 濃度は活動期 BD で低値であった ( $3.1 \pm 2.1$  pg/ml vs  $1.4 \pm 1.8$  pg/ml,  $P < 0.05$ ) (図 2)。

健常人および BD 患者全体に分けて IL-17 (x)と IL-22 (y)の相関をみると健常人は正、では負の相関の傾向を認めた。さらに BD 患者を活動期と非活動期にわけて IL-17 (x)と IL-22 (y)の相関をみると活動期では有意ではなかったものの正 ( $y = 0.13x - 2.54$ ,  $R = 0.30$ )、非活動期は負 ( $y = -0.46x + 16.2$ ,  $R = -0.24$ ) の相関の傾向を示し、活動期および非活動期ではその分布は異なっていた。

また、眼病変の活動期に治療し、改善した 4 例における治療前後での検討では、疾患活動性の低下にともない、IL-22 濃度は 4 例中 2 例で不変、2 例で上昇を認めた。一方、血漿 IL-17 濃度の変化を検討すると、いずれの症例においても治療による BD の疾患活動性の低下に伴い、IL-17 濃度が低下していた。

### 2) 末梢血 CD 4<sup>+</sup>T 細胞中の Th 17 および Th 1/Th 17 の比率

Th 17 サブセット、Th 1/Th 17 サブセットの比率をフローサイトメトリーで検討した。その結果、Th 17 および Th 1/Th 17 は共に、非活動期および活動期 BD 患者で健常人と比較し、高値ないしその傾向を認めた (図 3)。興味深いことに Th 17、Th 1/Th 17 比率上昇は非活動期に顕著であった。

### 3) 末梢血 CD 4<sup>+</sup>T 細胞中の Th 22 の比率

Th 22 比率は非活動期 BD で活動期 BD、健常人と比較し、それぞれ高値であった(図 4)。

また眼病変に対し治療を行い、症状が軽快した4例全例で、治療による疾患活動性の低下に伴い、Th 22の比率は上昇した。

#### 4) lipocalin-2の血漿中濃度

lipocalin-2は活動期および非活動期BDのいずれにおいても健常人より高値であった(活動期BD  $1.0 \pm 0.7$  ng/ml、非活動期BD  $1.1 \pm 0.9$  ng/ml、健常人  $0.4 \pm 0.2$  ng/ml、それぞれ  $P < 0.05$ )。さらに活動期および非活動期に層別化し、血漿IL-22濃度とlipocalin-2濃度の相関について検討すると、活動期では相関を認めなかったのに対し、非活動期では正の相関を認めた(x: IL-22, y: lipocalin-2とすると、相関曲線  $y = 0.13x + 0.67$ ,  $R = 0.61$ ,  $P < 0.05$ )。

#### D. 考察

BD患者末梢血中では健常人と比較し、活動期に血漿IL-22が低下、IL-17が上昇していた。また同一症例で測定したIL-17濃度とIL-22濃度を同時にプロットすると、活動期には正、非活動期には負の相関の傾向を示していたことから、活動期にはTh 17が優位に、非活動期にはTh 22が優位となっている可能性が推察された。また、経時的検討ではIL-22は非活動期に上昇ないし不変、IL-17は活動期に上昇を認めていたことも上記仮説を支持する。さらに末梢血CD4<sup>+</sup>T細胞中のTh 22比率は非活動期BDで活動期BD、健常人と比較し高値であった。またIL-22により発現が誘導されるlipocalin-2も、BD患者で健常人と比較し、活動性に関わらず高値で、非活動期に血中IL-22と正の相関を示した。したがって、非活動期にはTh 22由来のIL-22によりlipocalin-2の産生が誘導されている可能性が示唆され、BD病態に対し抑制的に働いている可能性も想定される。

一方、Th 17の比率をみると、IL-17が活

動期に高値であるにもかかわらず、末梢血中での比率は健常人よりも高値であるものの、その傾向は非活動期に顕著であった。活動期にはTh 17が病変組織にリクルートされる可能性があり、病変部組織を用いたさらなる検討が必要である。

最近の検討ではヘルパーT細胞サブセットの可塑性が指摘され、液性因子や分化誘導にかかわるマスターレギュレータ遺伝子のepigeneticsとの関連が指摘されている。Th 22への分化制御機構は不明の点が多いが、BDの病勢に関わる炎症免疫環境がTh 17、Th 22への分化を制御している可能性がある。

#### E. 結論

BDの活動性病態の制御にTh 17、Th 22が関わる可能性が示され、これらT細胞サブセットが新たな治療標的になりえる。

#### F. 健康危険情報

特記事項なし。

#### G. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表	3件
原著論文による発表	0件
それ以外(レビュー等)の発表	2件

##### 論文発表

1. 桑名正隆: Behçet病; 序文. 炎症と免疫 19(5):475-476,2011.
2. 山口由衣、桑名正隆: Behçet病; Behçet病の病態とNK細胞. 炎症と免疫 19(5):491-494,2011.

##### 学会発表

1. 安岡秀剛、竹内勤、桑名正隆: ベーチェット病(BD)の病態とTh 17の関連につ

- いて. 第 55 回日本リウマチ学会総会 (神戸). 2011. 7. (ワークショップ: ベーチェット病)
2. 安岡秀剛、竹内勤、桑名正隆: ベーチェット病の病変形成には Th 17 と Th 1/Th 17 の療法のサブセットが関与している. 第 56 回日本リウマチ学会総会(東京). 2012. 4. (ワークショップ 85: ベーチェット病)
  3. 岳野光洋、出口治子、須田昭子、渡邊玲光、桑名正隆、沢田哲治、菊地弘敏、永瀧裕子、廣畑俊成、石ヶ坪良明: 血管ベーチェット病診療ガイドライン作成に向けて. 第 57 回日本リウマチ学会総会(京都). 2013. 4. (ワークショップ 14: ベーチェット病)

## 2) 海外

口頭発表	8 件
原著論文による発表	1 件
それ以外 (レビュー等) の発表	0 件

## 論文発表

1. Hirohata S, Kikuchi H, Sawada T, Nagafuchi H, Kuwana M, Takeno M, and Ishigatsubo Y. Clinical characteristics of neuro-Behçet's disease in Japan: a multicenter retrospective analysis. *Mod. Rheumatol.* 2012; 22(3): 405-413.

## 学会発表

1. Yasuoka H, Chen Z, Takeuchi T, Kuwana M: Th 17 is involved in the pathogenesis of Behçet's disease. The 98th Annual Meeting of American Association of Immunology (San Francisco). 2011. 5.
2. Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T,

- Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, Ikezawa Z, Kuwana M: The role of natural killer cells in patients with Behçet disease. *World Congress of Dermatology 2011 in Korea (Seoul)*. 2011. 5.
3. Yasuoka H, Chen Z, Takeuchi T, Kuwana M: Mechanism of the recruitment of Th 17 in the pathogenic process of Behçet's disease. 15th International Conference on Behçet's Disease (Yokohama). 2012. 7.
4. Kuwana M: Roles of T lymphocytes in pathogenesis of Behçet's disease. 15th International Conference on Behçet's Disease (Yokohama). 2012. 7.
5. Hirohata S, Kikuchi H, Sawada T, Nagafuchi H, Kuwana M, Takeno M, Ishigatsubo Y: Cyclosporine-related and cyclosporine-unrelated acute neurological events in Behçet's disease. 15th International Conference on Behçet's Disease (Yokohama). 2012. 7.
6. Ideguchi H, Suda A, Watanabe R, Kuwana M, Kikuchi H, Nagafuchi H, Saito K, Hirohata S, Takeno M, Ishigatsubo Y: Clinical features of Vasculo-Behçet's disease in Japan. 15th International Conference on Behçet's Disease (Yokohama). 2012. 7.
7. Takeno M, Ideguchi H, Suda A, Watanabe R, Kikuchi H, Nagafuchi H, Kuwana M, Saito K, Hirohata S, Ishigatsubo Y: Clinical features of Japanese patients with vasculo-Behçet's disease: a multicenter study by Behçet's disease research committee, MHLW. *The European League*

Against Rheumatism 2013 (Madrid). 2013. 6.

- Hirohata S, Kikuchi H, Sawada T, Nagafuchi H, Kuwana M, Takeno M, Ishigatsubo Y: Colchicine reduces relapse of acute neurological attacks in Behçet's disease. The European League Against Rheumatism 2013 (Madrid). 2013. 6.

H. 知的財産権の出願、登録状況

- 特許取得  
なし
- 実用新案登録  
なし
- その他  
なし

表 1. ベーチェット病患者 23 例の臨床特徴

活動期 : 非活動期	12 : 11
男性 : 女性	11 : 12
採血時年齢 (yrs)	46.1 ± 11.8
HLA-B51(+)	15/23 (65%)
完全型 : 不全型	13/23 (57%)
眼病変(全経過)	18/23 (78%)

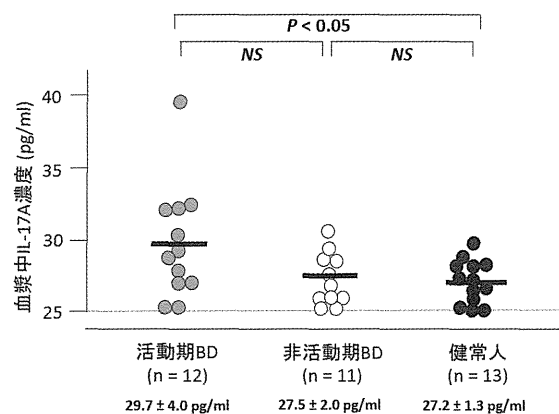


図 1. 活動期・非活動期ベーチェット病(BD)および健常人における血漿 IL-17 濃度の比較.

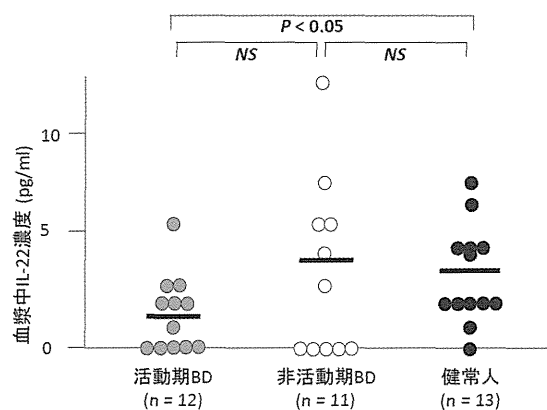


図 2. 活動期・非活動期ベーチェット病(BD)および健常人における血漿 IL-22 濃度の比較.

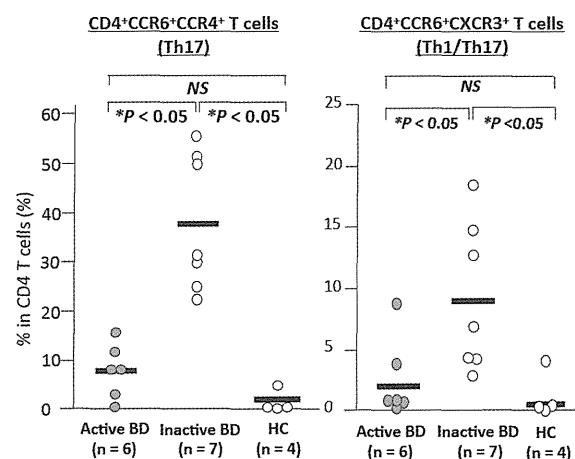


図 3. 活動期・非活動期ベーチェット病(BD)および健常人(HC)における末梢血 CD4<sup>+</sup>T 細胞中の Th 17 および Th 1/Th 17 の比率の比較.

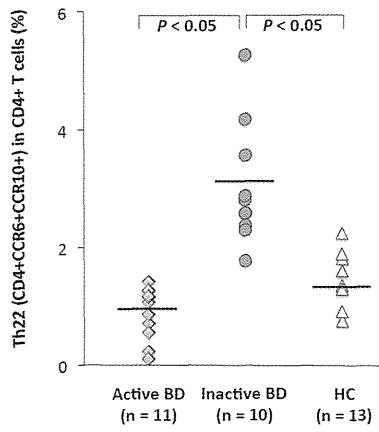


図4. 活動期・非活動期ベーチェット病(BD)および健常人(HC)における末梢血 CD4<sup>+</sup>T 細胞中の Th 22 の比率の比較.



## 厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服事業）

### 分担報告書

#### ベーチェット病における唾液内常在菌の関与についての研究

分担研究者 中村晃一郎（埼玉医科大学皮膚科教授）

研究協力者 宮野恭平（埼玉医科大学皮膚科助教）

目黒明（横浜市立大学視覚器病態学助教）

水木信久（横浜市立大学視覚器病態学教授）

金子史男（南東北総合病院皮膚免疫アレルギー研究所）

ベーチェット病（B病）は口腔内アフタ性潰瘍、結節性紅斑などの皮膚症状、眼症状、消化器症状などの全身症状を合併する疾患である。B病の患者の口腔内細菌叢には *S. sanguinis* が存在し、病態に関与することを報告してきた。自家唾液に対するプリック反応の有用性の可能性を報告し、48時間反応でB病で紅斑などの反応を示す症例が認められることを報告してきた。一方で反応の認められない症例も見られた。陽性例では組織学的にリンパ球浸潤を認めており、リンパ球を介する免疫応答によることを示した。一方、*S. sanguinis* 由来の菌体成分は皮膚樹状細胞に作用し、IL-23などの産生を誘導できることを示した。このことから、菌体成分が直接 Th 1, Th 17 産生に関与することが示された。遺伝子解析として IL-17 A SNP (rs 2275913) について解析した。

#### A. 研究目的

ベーチェット病（B病）は原因不明の炎症性疾患であるが、口腔内アフタで発症することが多く、また針反応や毛嚢炎は外来抗原に対する過敏反応を示している。B病の病態には自然免疫の異常があり、これまで *S. sanguinis* が悪化因子として関与することを報告してきた。これまでの研究でB病の補助診断として自家唾液プリックテストが有用である可能性を報告した。B病の病態には、IL-23、IL-17の産生亢進を認め、Th 1細胞や Th 17細胞の関与を認める。これまで IL-7 Ra SNP などのサイトカイン遺伝子多型解析(SNP)を報告しており、今回 IL-17 A SNP について解析した。

また樹状細胞の *S. Sanguinis* 菌体成分に対する反応性を in vitro で解析した。

#### B. 研究方法：

prick test用の lanceter を使用し B病患者、対照者に自家唾液プリックテストを施行し、24-48時間後に紅斑、膿疱の出現について判定した。

B病における *S.Sanguinis* の関与を明らかにするために、皮膚樹状細胞を作成し培養し、サイトカイン産生能について検討した。B病(95名)、コントロール(96名)から、IL-17 A SNP (rs 2275913) GG, GA, AA genotype 頻度につき解析した。

#### C. 研究結果

自家唾液反応では、B病の患者中に小紅斑を認め、また小膿疱を認めた。組織学的にはリンパ球優位の細胞浸潤であった。臨床症状との相関は認めなかった。

皮膚の樹状細胞を作成し、培養した。In vitro で PGN に対して樹状細胞の IL-23 などのサイトカイン産生が誘導された。さらに *S. Sanguinis* 由来の菌体成分を加えるとこれらのサイトカイン産生能が亢進した。

IL-17 SNP の解析では B 病で GG, GA, AA genotype 頻度では有意差を認めなかった。B 病での眼症状、皮膚症状、関節症状の出現の有無を比較すると、有意差は認めなかった。消化器症状の有無を比較すると、両者間において消化器症状を有する群で増加傾向を認めたが有意差は認めなかった(p=0.06)。

#### D. 考察

B 病では口腔アフタの出現、膿疱の出現を認める症例があるなど、外来抗原に対する過敏反応が認められる。B 病患者の口腔内の細菌叢には *S Sanguinis* が多いこと、B 病が口腔内アフタで発症することから、発症に自家唾液に含まれる *S sanguinis* の関与が推測されている。

B 病における口腔アフタと *S Sanguinis* の関連を検討するために、皮膚樹状細胞のサイトカイン産生調節について検討した。今回、皮膚に在住する樹状細胞が、皮膚や粘膜において *S. sanguinis* などの外来抗原に反応することがサイトカイン産生の変化から示された。樹状細胞は自然免疫に関与すると同時に、口腔内唾液中の菌体成分にも反応し、Th 1 細胞や TH 17 細胞などの獲得免疫にも反応している可能性が示された。樹状細胞の MHC 拘束性と自己唾液の抗原に対しても対応が存在するかどうかについて今後解析を進める必要があると考えられた。

B 病患者を対象に自家唾液プリックテストを施行し、一部の患者で膿疱や紅斑を生じたことから、自家唾液に含まれる *S Sanguinis* の皮膚炎症への関与が示唆された。

IL-17 A SNP (rs 2275913) 解析では、GG , GA, AA genotype において IL-17 A SNP と消化管症状との間に関連性の傾向が認められたが有意差は認めなかった。

#### E. 結論

B 病における病態には、口腔内由来の *S. Sanguinis* の関与が示された。

#### F. 健康危険情報：なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Togashi A, Saito S, Kaneko F, Nakamura K, Oyama N. Skin Prick test with Self-Saliva in patients with oral aphthosis: a diagnostic pathergy for Behcet's disease and recurrent aphthosis. *Inflamm Allergy Drug Targets* 10 (3): 164-70, 2011

Kaneko F, Togashi A, Saito S, Sakuma H, Oyama N, Nakamura K, Yokota K, Oguma K. Behcet's disease (Adamantiades-Behcet's disease). *Clin Dev Immunol* 2011: 681956, 2011

中村晃一郎. ベーチェット病の免疫異常と遺伝子多型解析. 51 (4) : 80 - 83, 2011, 医薬の門.

中村晃一郎. アフタとは? Behcet 病におけるアフタ性口内炎は特徴がありますか? 皮膚の臨床 : 53 (11):1623 - 25, 2011 (10).

中村晃一郎. Behcet 病の外陰部潰瘍と Lipschutz 潰瘍の関係は? 皮膚の臨床 : 53 (11):1687 - 89, 2011 (10).

Kaneko F, Togashi A, Nomura E, Nakamura K, Isogai E, Yokota K, Oguma K. Role of heat shock protein derived from streptococcus sanguinis in

Behcet's disease. J Medical Microbiology &Diagnosis. ISSN: 2161-0703, 2012

## 2. 学会発表

Nakamura K, Miyano K, Neuchi A, Tsuchida T, Meguro A, Mizuki N. Analysis of IL-17 A SNP in Behcet's Disease. 36<sup>th</sup> Japanese Society for Investigative Dermatology. Dec 9, 2011.

Nakamura K, Miyano K, Meuchi A, Tsuchida T, Meguro A, Mizuki N. Analysis of CXCR 1 and CXCR 2 SNP in patients with Behcet's diseases. The 37<sup>th</sup> Japanese Society for Investigative Dermatology. Dec 7, 2012.

金子史男、富樫亜吏、野村絵里香、中村晃一郎。ベーチェット病の補助診断としての自家唾液によるプリック反応。第63回日本アレルギー学会秋季学術大会。2013, 11月

## H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 新生登録状況：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（難治性疾患等克服研究事業  
（難治性疾患克服研究事業））分担研究報告書

臨床調査個人票を用いたベーチェット病の予後の研究方法  
新規受給者の1年後、5年後の予後と1年後の予後に関連する要因

研究分担者 黒沢美智子 順天堂大医学部衛生学 准教授  
共同研究者 稲葉 裕 順天堂大医学部衛生学名誉教授  
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  
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

研究要旨

当研究班では医療費の自己負担軽減のための受給申請時に提出される臨床調査個人票データを用いた分析結果をH17年度より報告している。本データは受給更新された場合、個人ベースで経過を確認することができる。本データシステムが稼働して約9年、ようやく累積データを用いた予後の検討ができるようになり、H23～25年度は予後の分析を試みた。本データは100%入力されていないため良好に入力されている都道府県のデータを抽出し、新規と更新データを連結させて分析に用いた。H23年度は2004年度新規受給者の1年後と5年後の病型と重症度の変化を確認した。2004年度新規受給者の1年後、病型不変は67.1%、5年後は37.5%であった。Stage(重症度)は1年後、不変55.9%、悪化6.6%、軽快12.9%、不明1.6%、5年後は不変28.1%、悪化5.8%、軽快12.4%、不明8.8%であった。1年後の受給非継続率は約24%、5年後は約45%、非継続率は重症度が軽い人と重い人で高かった。H24年度は2004年度新規376例の1年後のStage悪化の要因を分析した。新規申請時Stageが1年後に進行していた人を「悪化」とし、「悪化」に影響する要因を新規申請時の症状(口腔内アフタ、皮膚症状、眼症状、外陰部潰瘍、副睾丸炎、消化器病変、血管病変、中枢神経病変、等)、病型、検査所見(皮膚の針反応、炎症反応、等)とし、多重ロジスティックモデルを用いてオッズ比と95%信頼区間を求めた。しかし例数が少なく、悪化要因は若年発症(35歳)以外に認められなかった。そこでH25年度は2004～2008年(5年分)の新規申請1794例を用いて、1年後の悪化要因を分析した。1年後の悪化に影響していたのは新規申請時の「潜血・下血の症状あり」と「皮膚の針反応あり」であった。それ以外の要因は有意な関連を認めなかった。本データの非継続の理由(軽快や死亡)が確認できれば予後の分析は飛躍的に進むと思われる。また、H25年度は新しい視点として日本の将来推計人口を基にベーチェット病の発症と治療の状況が今後も変わらないと仮定した場合のベーチェット病患者の年齢分布と患者数の将来予測を行った。日本の高齢化に伴い、ベーチェット病患者も高齢化していくことが示された。今後、臨床調査個人票データを用いて重症度や病型、有症状割合が将来どのように変化するか予測していく。

A. 研究目的

ベーチェット病の臨床疫学像についての調

査は厚労省研究班で過去5回の全国調査が行われ報告されているが、H15(2001)年より医