

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16901

研究課題名（和文）ベーチェット病の眼発作における季節変動の評価

研究課題名（英文）Analysis of seasonal variation of ocular attack in Behcet's disease

研究代表者

石戸 みづほ（ISHIDO, Mizuho）

横浜市立大学・医学部・助教

研究者番号：30897096

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：ベーチェット病患者における眼発作の発生頻度が季節変動を示すことが以前から指摘されているが未だ明確な結論には至っていない。したがって本研究では、日本人のベーチェット病患者を対象に、ベーチェット病における眼発作の季節変動をレトロスペクティブに詳細に評価した。その結果、ベーチェット病の眼発作が統計学的有意に季節変動を示すことが認められた。さらに、ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える遺伝的要因の網羅的なスクリーニングを行った結果、一部の疾患感受性遺伝子が眼発作の季節変動に有意な影響を与える可能性が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ベーチェット病の眼発作の季節変動の全容が明確になれば、またさらに、眼発作の季節変動に影響を与える遺伝的要因が解明されれば、日常診療において季節的要因および遺伝的要因を念頭に置き、ベーチェット病患者の治療や予防にあたることが可能となり、その臨床的意義は高いといえる。ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える遺伝的要因の解明は、その遺伝的要因に関連する環境要因の理解にもつながり、ベーチェット病の病態の理解がさらに進むことが期待される。

研究成果の概要（英文）：It has long been pointed out that the frequency of ocular attacks in patients with Behcet's disease exhibits seasonal variations, but no clear conclusion has yet been reached. Therefore, in this study, we retrospectively evaluated the seasonal variation of ocular attacks in Behcet's disease in Japanese patients with Behcet's disease. The current study found that ocular attacks in Behcet's disease show statistically significant seasonal variation. Furthermore, we found that some of susceptibility genes for Behcet's disease have a significant effect on the seasonal variation of ocular attacks.

研究分野：眼科学

キーワード：ベーチェット病 眼発作 季節変動

1. 研究開始当初の背景

(1) ベーチェット病は全身の諸臓器に急性の炎症を繰り返す原因不明の難治性疾患である。ベーチェット病は口腔内アフタ性潰瘍、眼症状、皮膚症状、外陰部潰瘍を主症状とし、しばしば関節炎、精巣上体炎（副睾丸炎）、消化器症状、血管病変、中枢神経病変などの副症状を伴うことがある。

(2) 日本では、ベーチェット病患者のおよそ 50～70%が眼症状を保有し、長期間に渡って再発と寛解を繰り返す重症例では失明に至ることもある。近年、ベーチェット病に対して有効な治療法（インフリキシマブ治療）が確立されてきているが、本剤に不応答性の患者も存在し、ベーチェット病は今なお失明率の高い疾患である。

(3) ベーチェット病患者における眼発作の発生頻度が季節により異なること（季節変動を示すこと）が以前から指摘されており、過去の研究では、眼発作は冬期や梅雨期、季節の変わり目に多い傾向が報告されている（日眼会誌 1976;80:1285-1326. 臨眼 1981;35:880-887. 眼科臨床医報 1984;78:28-32. 臨眼 2001;55:1523-1525.）。しかしながら、いずれの研究も症例数が十分ではなく（10～109 例）研究によってはベーチェット病の眼発作と季節の関連に否定的な報告（厚生省ベーチェット病研究班、昭和 55 年度業績集）もあり、「ベーチェット病の眼発作の頻度が季節変動を示すか？」について未だ明確な結論には至っていない。

(4) また、ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える要因として、気圧や前線などの気象因子が眼発作の季節変動に関与する可能性が挙げられているが、一定の見解は得られておらず、「ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える要因は何か？」も依然として不明なままである。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、ベーチェット病患者の多数症例を対象に、ベーチェット病における眼発作の季節変動をレトロスペクティブに詳細に調査し、眼発作の季節変動の有無・パターンを明らかにすることを目的とする。

(2) さらに、これまでに報告されているベーチェット病の遺伝的要因（疾患感受性遺伝子）を対象に、「ベーチェット病の眼発作の季節変動」と「ベーチェット病患者の遺伝的背景」の関連も網羅的に調査する。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、1998 年 3 月から 2022 年 9 月までの間に横浜市立大学附属病院眼科のぶどう膜炎クリニックを受診する日本人のベーチェット病患者 204 例を対象に、眼発作の季節変動の評価を実施した。当科に初診以降の月別の眼発作の回数を集計し、眼発作の季節変動をレトロスペクティブに評価した。

(2) ベーチェット病の眼発作の季節変動の統計学的評価は、Roger's test^{*}を用いて実行し、月別時間的変動を解析した。本評価では、ベーチェット病患者の性別や年齢、などを考慮した層別解析も実施した。

$$* \text{Roger's } R = 2 \left[\left\{ \sum_{i=1}^k N_i \sin\left(\frac{2\pi i}{k}\right) \right\}^2 + \left\{ \sum_{i=1}^k N_i \cos\left(\frac{2\pi i}{k}\right) \right\}^2 \right] / n$$

i: 月, k: 月の総数(k=12), n: 眼発作の総数, N_i : 各月の眼発作の数
Roger's $R = 5.99146 = \chi^2_2 (P=0.05)$

(3) また、ベーチェット病の眼発作の季節変動には遺伝的要因が関与していることが示唆されているため、眼発作の季節変動に対する遺伝的要因の影響の評価も網羅的に実施した。本評価の具体的手順を以下に記す。

これまでの HLA 研究やゲノムワイド関連（GWAS）研究で報告されているベーチェット病の 25 個の疾患感受性遺伝子（HLA-B*51、HLA-A*26、IL10、IL23R-IL12RB2、CCR1、STAT4、KLRC4、ERAP1、TNFAIP3、MEFV、FUT2、IL12A、IL1A-IL1B、RIPK2、ADO-EGR2、LACC1、IRF8、CEBPB-PTPN1、LNCAROD/DKK1、IFNGR1、VAMP1、SIPA1-FIBP-FOSL1、IL10RA、RPS6KA4、ZMIZ1）を対象に評価を実施した。

各遺伝子の疾患感受性 SNP (single nucleotide polymorphism: 一塩基多型) を対象に、TaqMan アッセイ (Thermo Fisher Scientific 社) を用いた SNP ジェノタイピングを実行し、各患者における各 SNP の遺伝子型の判定を行った。TaqMan アッセイは Thermo Fisher Scientific 社のプロトコルに準拠し、StepOnePlus リアルタイム PCR システム (Thermo Fisher Scientific 社) を用いて各 SNP の遺伝子型を判定した。

各疾患感受性 SNP のリスクアレルの保有の有無でベーチェット病患者を層別化し、各遺伝的要因と眼発作の季節変動の関連を調査した。

さらに、複数の遺伝的要因の組み合わせがベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える可能性も考慮し、種々の遺伝子のリスクアレルの組み合わせの有無でもベーチェット病患者の層別化を行い、遺伝的要因の各組み合わせが眼発作の季節変動に影響を与えるかを検討した。

(4) 近年、免疫関連遺伝子を含む 5,136 個の遺伝子 (遺伝子全体の約 23%) の発現量が季節に応じて変化していることを報告しており (Nat Commun 2015;6:7000.) 特定の遺伝子における発現量の季節変化が、ベーチェット病を含む免疫疾患や心臓疾患、うつ病などの「発症率に季節の偏りがみられる疾患」の病態に関与していることが推察される。したがって本研究では、前述したベーチェット病の疾患感受性遺伝子を対象に遺伝子発現解析を実行し、ベーチェット病の眼発作の季節変動と遺伝子発現量の変化の関連の評価も実施した。本評価の具体的手順を以下に記す。

ベーチェット病患者から経時的に採取した血液サンプル由来の total RNA から調製した cDNA を対象に、TaqMan アッセイによるリアルタイム PCR 法を用いて各疾患感受性遺伝子の発現量を定量した。TaqMan アッセイは Thermo Fisher Scientific 社のプロトコルに準拠し、StepOnePlus リアルタイム PCR システムを用いて各 SNP の遺伝子発現量の定量を行った。

各々の疾患感受性遺伝子について、Roger's test を用いて遺伝子発現量の月別時間的変動の解析を行い、各疾患感受性遺伝子の発現量が季節によって有意に変動を示すかを評価した。

さらに、各患者における「遺伝子発現解析」データと、(3)の SNP ジェノタイピングで得られる遺伝子の「リスクアレル」データを総合的に評価して、ベーチェット病の眼発作の季節変動に対する遺伝的要因の影響が遺伝子発現量の季節変動に起因するものであるかを評価した。

(5) 本研究では、遺伝子解析に対して血液検体を提供するすべての参加者 (ベーチェット病患者) に対して、研究の目的、研究の期間と方法、研究参加により予測される効果及び危険性、研究に協力しない場合であっても不利益を受けないこと、研究への参加に同意した場合であっても、随時これを撤回できること等を十分に説明し、インフォームドコンセントを得た上で研究に参加していただいた。血液検体提供者の個人情報は連結匿名化の上、本研究に関わらない個人情報管理者によって厳重に管理されている。

(6) また、本研究は横浜市立大学の倫理委員会における審査の上、研究実施の承認を受けて実施している。

4. 研究成果

(1) 本研究対象のベーチェット病患者 204 例について眼発作の回数を集計した結果、観察期間を通して合計 1,054 回の眼発作が認められた。

(2) 眼発作の回数を月別に見ると、眼発作の回数が最も多かった月は 11 月であり、次いで 12 月、10 月、3 月であった。一方、眼発作の回数が最も少なかった月は 6 月、7 月、8 月の夏の時期であり、ベーチェット病の眼発作の回数が季節により変動していた。Roger's test を用いて眼発作の月別時間的変動を統計解析した結果、眼発作が統計学的有意に季節変動を示すことが認められた。 ($P < 0.05$)

(3) また、ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える遺伝的要因の網羅的なスクリーニングを行った結果、HLA-A*26 を含む一部の疾患感受性遺伝子が眼発作の季節変動に有意な影響を与える可能性が認められた。

(4) 一方、ベーチェット病患者の性別や発症年齢を考慮した層別化解析を実施したが、男女間および発症年齢の違いの間で、眼発作の季節変動に有意な差は認められなかった。したがって、性別や発症年齢の違いがベーチェット病の眼発作の季節変動に与える影響は無い、または非常に小さいものと推察された。

(5) ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える可能性が示唆された疾患感受性遺伝子を対象に遺伝子発現解析を実行した結果、一部の疾患感受性遺伝子において、季節に応じた遺伝子発現量の変動が認められた。

(6) 本研究の成果を明確にするため、今後サンプルサイズを増やして同様の解析を実行する予定である。

(7) 今後、ベーチェット病の眼発作の季節変動の全容が明確になれば、またさらに、眼発作の季節変動に影響を与える遺伝的要因が解明されれば、日常診療において季節的要因および遺伝的要因を念頭に置き、ベーチェット病患者の治療や予防にあたることが可能となり、その臨床的意義は高いといえる。

(8) ベーチェット病の眼発作の季節変動に影響を与える遺伝的要因の解明は、その遺伝的要因に関連する環境要因の理解にもつながり、ベーチェット病の病態の理解がさらに進むことが期待される。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	水木 信久 (MIZUKI Nobuhisa)		
研究協力者	目黒 明 (MEGURO Akira)		

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------