

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592602

研究課題名(和文) 難治性内因性ぶどう膜炎における網羅的自己抗体解析研究

研究課題名(英文) Comprehensive examination for serum autoantigens in endogenous uveitis patients

研究代表者

大野 重昭(OHNO, Shigeaki)

北海道大学・・・名誉教授

研究者番号：50002382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では我々が開発した自己抗体検出システムを用いて難治性内因性ぶどう膜炎の自己抗体を網羅的に検索・同定した。

フォークト-小柳-原田病患者を3プール群に分けて検討した結果、患者3プール群すべてにおいて、健常コントロール群に比べて1.5倍以上の産生を示すタンパク質を10種類同定した。

ベーチェット病においても同様に患者プール群すべてにおいて、健常コントロール群に比べて1.5倍以上の産生を示すタンパク質を6種類同定した。これら同定したタンパク質のうち、3種類は両疾患において共通であった。

研究成果の概要(英文)：In this study, serum autoantigens were examined comprehensively in the patients with endogenous uveitis by using our novel detection system. Serum samples were divided into 3 pooled groups.

Among Vogt-Koyanagi-Harada disease patients, 10 kinds of proteins were elevated more than one-and-a-half levels compared with healthy volunteers in sera. Behcet's disease patients also showed that 6 kinds of serum proteins were increased levels by half compared with those of healthy subjects.

We further demonstrated that 3 of these elevated proteins were common to Vogt-Koyanagi-Harada disease and Behcet disease.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼免疫学

キーワード：ぶどう膜炎 ベーチェット病 原田病 自己抗体

## 1. 研究開始当初の背景

難治性内因性ぶどう膜炎は、先進国では中途失明原因の 10-15% を占める重要な疾患領域である。我が国ではサルコイドーシス、フォクト-小柳-原田病(原田病)、ベーチェット病が3大原因疾患であり、いずれも自己免疫が関わると考えられている。これまでの臨床的および基礎的研究により、ある特定の HLA 遺伝子に提示された各種抗原に対する何らかの抗体による免疫反応(抗原抗体反応)が原因となり、病態が形成されると考えられている。したがって、疾患特異的な自己抗体を特定することは病態の理解・解明とともに先進的な診断・治療に結びつくと考えられるが、これまでこれらの疾患群で網羅的な自己抗体解析はなされていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的はこれらの難治性内因性ぶどう膜炎における自己抗体プロファイルを網羅的に解析・検出し、最終的にはこれらのぶどう膜炎特異的な自己抗体を指標とした病態解析・診断技術を開発することである。

## 3. 研究の方法

本研究では我々の開発した自己抗体検出システム(コムギ胚芽無細胞タンパク質合成ロボット)を用いて難治性内因性ぶどう膜炎の自己抗体を網羅的に検索・同定した。マウスタンパク質ライブラリーを利用した予備的実験で測定精度やプロトコルを確定し、まず原田病に関連した 10 数種の自己抗体を検出することに成功した。そのうち、このシステムを用いて原田病およびベーチェット病を対象に自己抗体プロフィールの網羅的な自己抗体スクリーニングを系統的に行い、難治性内因性ぶどう膜炎に特異的な血清中自己抗体の同定を行った。

## 4. 研究成果

原田病患者 14 例を 3 プール群(5 例、5 例、4 例)に分けて自己抗体スクリーニングを行った結果、患者 3 プール群すべてにおいて、健常コントロール群に比べて 1.5 倍以上の産生を示すタンパク質を 10 種類同定した。ベーチェット病においても、患者 15 例を 3 プール群(各 5 例ずつ)に分けて自己抗体スクリーニングを行った結果、患者 3 プール群すべてにおいて、健常コントロール群に比べて 1.5 倍以上の産生を示すタンパク質を 6 種類同定した。これら同定したタンパク質のうち、3 種類が両疾患において共通であった。また、両疾患で得られた結果をスコア化してタンパク質のランク付けを総合的に行った結果、さらに 12 種類のタンパク質が両疾患に共通して関連することが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 30 件)

1. Kase S, Namba K, Kitaichi N, Iwata D, Ohno S, Ishida S, Clinical features of human T lymphotropic virus type-1 associated uveitis in Hokkaido, Japan, Jpn J Ophthalmol, 査読有, Vol.57, 2013, 379-384, DOI: 10.1007/s10384-013-0244-x
2. Lee YJ, Horie Y, Wallace GR, Choi YS, Park JA, Song R, Kang YM, Kang SW, Baek HJ, Kitaichi N, Meguro A, Mizuki N, Namba K, Ishida S, Kim J, Niemczek E, Lee EY, Song YW, Ohno S, Lee EB, Genome-wide association study identifies GIMAP as a novel susceptibility locus for Behcet's disease, Ann Rheum Dis, 査読有, Vol.72, 2013, 1510-1516, DOI: 10.1136/annrheumdis-2011-200288
3. Lennikov A, Kitaichi N, Kase S, Noda K, Horie Y, Nakai A, Ohno S, Ishida S, Induction of heat shock protein 70 ameliorates ultraviolet-induced photokeratitis in mice, Int J Mol Sci, 査読有, Vol. 14, 2013, 2175-2189, DOI:10.3390/ijms14012175.
4. Mizuuchi K, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Ishida S, Ohno S, Trabecular meshwork depigmentation in Vogt-Koyanagi-Harada disease, Jpn J

- Ophthalmol, 査読有, Vol.57, 2013, 245-251, DOI: 10.1007/s10384-012-0229-1
5. Takemoto Y, Namba K, Mizuuchi K, Ohno S, Ishida S, Two cases of subfoveal choroidal neovascularization with tubulointerstitial nephritis and uveitis (TINU) syndrome, Eur J Ophthalmol, 査読有, Vol.23, 2013, 255-257, DOI:10.5301/ejo.5000240
  6. Yamane S, Lee A, Hanaoka N, Gonzalez G, Kaneko H, Ishida S, Kitaichi N, Ohno S, Koyanagi K, Aoki K, Fujimoto T, Yawata N, Watanabe H, Identification of contamination in the American Type Culture Collection stock of human adenovirus type 8 by whole genome sequencing, J Virol, 査読有, Vol.87, 2013, 1285-1286, DOI: 10.1128/JVI.02875-12
  7. Chin S, Nitta T, Shinmei Y, Aoyagi M, Nitta A, Ohno S, Ishida S, Yoshida K, Reduction of intraocular pressure using a modified 360-degree suture trabeculectomy technique in primary and secondary open-angle glaucoma: A pilot study, J Glaucoma, 査読有, Vol.21, 2012, 401-407, DOI: 10.1097/IJG.0b013e318218240c
  8. Horie Y, Meguro A, Kitaichi N, Lee E B, Kanda A, Noda K, Song Y W, Park K S, Namba K, Ota M, Inoko H, Mizuki N, Ishida S, Ohno S, Replication of a microsatellite genome-wide association study of Behcet disease in a Korean population, Rheumatology, 査読有, Vol. 51,2012, DOI: 10.1093/rheumatology/ker444
  9. Ishijima K, Namba K, Ohno S, Mochizuki K, Ishida S, Intravitreal injection of bevacizumab in a case of occlusive retinal vasculitis accompanied with syphilitic intraocular inflammation, Case Report Ophthalmol, 査読有, Vol.3, 2012, 434-437, DOI: 10.1159/000346046
  10. Iwata D, Namba K, Mizuuchi K, Kitaichi N, Kase S, Takemoto Y, Ohno S, Ishida S, Correlation between elevation of serum antinuclear antibody titre and decreased therapeutic efficacy in the treatment of Behcet 's disease with infliximab, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 査読有, Vol. 250, 2012, 1081-1087, DOI: 10.1007/s00417-011-1908-1
  11. Kitamei H, Namba K, Kitaichi N, Wakayama A, Ohno S, Ishida S, Chickenpox chorioretinitis with retinal exudates and periphlebitis, Case Report Ophthalmol, 査読有, Vol.3, 2012, 180-184, DOI: 10.1159/000339128
  12. Lennikov A, Kitaichi N, Fukase R, Murata M, Noda K, Ando R, Ohguchi T, Kawakita T, Ohno S, Ishida S, Amelioration of ultraviolet-induced photokeratitis in mice treated with astaxanthin eye drops, Mol Vis, 査読有, Vol.18, 2012, 455-464
  13. Lennikov A, Kitaichi N, Noda K, Ando R, Dong Z, Fukuhara J, Kinoshita S, Namba K, Mizutani M, Fujikawa T, Itai A, Ohno S, Ishida S, Amelioration of endotoxin-induced uveitis treated with an I B kinase inhibitor in rats, Mol Vis, 査読有, Vol.18, 2012, 2586-2597
  14. Okada AA, Goto H, Ohno S, Mochizuki M, Kitaichi N, Namba K, Keino H, Watanabe T, Ishibashi T, Ito T, Sonoda K, Nakai K, Ohguro N, Sugita S, Kezuka T, Kaburaki T, Takamoto M, Mizuki N, Multicenter study of infliximab for refractory uveoretinitis in Behcet disease, Arch Ophthalmol, 査読有, Vol.130, 2012, 592-598, DOI: 10.1001/archophthalmol
  15. Saito M, Yoshida K, Saito W, Fujiya A, Ohgami K, Kitaichi N, Tsukahara H, Ishida S, Ohno S, Astaxanthin increases choroidal blood flow velocity, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 査読有, Vol. 250, 2012, 239-245, DOI: 10.1007/s00417-011-1843-1
  16. Sakuyama K, Meguro A, Ota M, Ishihara M, Uemoto R, Ito H, Okada E, Namba K, Kitaichi N, Morimoto S, Kaburaki T, Ando Y, Takenaka S, Yuasa T, Ohno S, Inoko H, Mizuki N, Lack of association between IL10 polymorphisms and sarcoidosis in Japanese patients, Mol Vis, 査読有, Vol. 18, 2012, 512-518,
  17. Suzuki H, Ota M, Meguro A, Katsuyama Y, Kawagoe T, Ishihara M, Ohno S (22 番目) et al 計 24 名, Genetic characterization and susceptibility for sarcoidosis in Japanese patients: Risk factors of BTNL2 gene polymorphisms and HLA class II alleles, Invest Ophthalmol Vis Sci, 査読有, Vol.53, 2012, 7109-7115, DOI: 10.1167/iovs.12-10491
  18. 北市伸義、明尾 潔、熊埜御堂隆、三島宣彦、三宅瑞絵、大塚宏之、高橋弘毅、溝口晋弘、東真千子、日隈陸太郎、安里良隆、青木功喜、石田 晋、大野重昭、白金-金コロイド標識抗体を用いたアデ

- ノウイルス迅速診断検査キットの評価、  
医学のあゆみ、査読有、237 巻、2011、  
214-215
19. Aoki K, Benko M, Davison JA, Echavarria M, Erdman D D, Kitaichi N, Ohno S, 他 24 名, Toward an integrated human adenovirus designation system that utilizes molecular and serological data and serves both clinical and fundamental virology, *J Virol*, 査読有, Vol.85, 2011, 5703-5704, DOI: 10.1128/JVI.00491-11
  20. Aoki K, Kaneko H, Kitaichi N, Ohguchi T, Tagawa Y, Ohno S, Clinical features of adenoviral conjunctivitis at the early stage of infection, *Jpn J Ophthalmol*, 査読有, Vol. 55, 2011, 11-15, DOI: 10.1007/s10384-010-0894-x
  21. Horie Y, Saito W, Kitaichi N, Miura T, Ishida S, Ohno S, Evaluation of NLRP1 gene polymorphisms in Vogt-Koyanagi-Harada disease, *Jpn J Ophthalmol*, 査読有, Vol. 55, 2011, 57-61, DOI: 10.1007/s10384-010-0887-9
  22. Ito R, Ota M, Meguro A, Katsuyama Y, Uemoto R, Nomura E, Nishide T, Kitaichi N, Horie Y, Namba K, Ohno S, Inoko H, Mizuki N, Investigation of association between TLR9 gene polymorphisms and VKH in Japanese patients, *Ocul Immunol Inflamm*, 査読有, Vol.19, 2011, 202-205, DOI:10.3109/09273948.2011.553981
  23. Jin XH, Aoki K, Kitaichi N, Ariga T, Ishida S, Ohno S, Genome variability of human adenovirus type 8 causing epidemic keratoconjunctivitis during 1986-2003 in Japan, *Mol Vis*, 査読有, Vol.17, 2011, 3121-3127,
  24. Jin XH, Ishii A, Aoki K, Ishida S, Mukasa K, Ohno S, Detection of human adenovirus hexon antigen using carbon nanotube sensors, *J Virol Methods*, 査読有, Vol. 171, 2011, 405-407, DOI:10.1016/j.jviromet.2010.12.004
  25. Kaneko H, Aoki K, Ishida S, Ohno S, Kitaichi N, Ishiko H, Fujimoto T, Ikeda Y, Nakamura M, Gonzalez G, Koyanagi KO, Watanabe H, Suzutani T, Recombination analysis of intermediate human adenovirus type 53 in Japan by complete genomes sequence, *J Gen Virol*, 査読有, Vol. 92, 2011, 1251-1259, DOI:10.1099/vir.0.030361-0
  26. Kaneko H, Suzutani T, Aoki K, Kitaichi N, Ishida S, Ishiko H, Ohashi T, Okamoto S, Nakagawa H, Hinokuma R, Asato Y, Oniki S, Hashimoto T, Iida T, Ohno S, Epidemiological and virological features of epidemic keratoconjunctivitis due to new human adenovirus type 54 in Japan, *Br J Ophthalmol*, 査読有, Vol. 95, 2011, 32-36, DOI:10.1136/bjo.2009.178772
  27. Kase S, Yoshida K, Suzuki S, Ohshima KI, Ohno S, Ishida S, Diffuse infiltrating retinoblastoma invading subarachnoid space, *Clin Ophthalmol*, 査読有, Vol. 5, 2011, 861-863, DOI: http://dx.doi.org/10.2147/OPHTH.S20913
  28. Sada T, Ota M, Katsuyama Y, Meguro A, Nomura E, Uemoto R, Nishide T, Okada E, Ohno S, Inoko H, Mizuki N, Association analysis of toll-like receptor 7 gene polymorphisms and Behcet 's disease in Japanese patients, *Hum Immunol*, Vol. 72, 2011, 269-272, DOI:10.1016/j.humimm.2010.12.007
  29. Sato M, Kawagoe T, Meguro A, Ota M, Katsuyama Y, Ishihara M, Namba K, Kitaichi N, Morimoto S, Kaburaki T, Ando Y, Takenaka S, Ohno S, Inoko H, Mizuki N, Toll-like receptor2 (TLR2) gene polymorphisms are not associated with sarcoidosis in the Japanese population, *Mol Vis*, 査読有, Vol. 17, 2011, 731-736,
  30. Takamura E, Uchio E, Ebihara N, Ohno S, Ohashi Y, Okamoto S, Kumagai N, Satake Y, Shoji J, Nakagawa Y, Namba K, Fukagawa K, Fukushima A, Fujishima H, Japanese guideline for allergic conjunctival diseases, *Allergol Int*, 査読有, Vol.60, 2011, 191-203, DOI: 10.2332/allergolint.11-RAI-0335
- [学会発表](計43件)
1. Ohno S, Namba K, Kitaichi N, Clinical features of Vogt-Koyanagi-Harada 's disease, 7th Korean Uveitis Conference, 2013/11/23, Seoul, Korea, Seoul National University
  2. Ohno S, Disease mechanisms and tretment of Behcet 's disease, 14th Behcet 's Disease, 2013/11/22, Seoul, Korea, Seoul National University
  3. Ohno S, Chin S, Management dilemmas in uveitis, Second Biennial National Conference, 2012/12/15, Bangladesh Uvea Society, Dhaka, Bangladesh

4. Ohno S, Presentation perspectives in Vogt-Koyanagi-Harada disease, Second Biennial National Conference, 2012/12/15, Bangladesh Uvea Society, Dhaka, Bangladesh
5. Ohno S, Corticosteroid therapy in uveitis, Ophthalmology Seminar 2012/12/12, Thimpu National Referral Hospital, Thimpu, Bhutan
6. Ohno S, Chin S, Management of secondary glaucoma in uveitis, Ophthalmology Seminar 2012/12/12, Thimpu National Referral Hospital: Thimpu, Bhutan
7. Ohno S, From autoimmunity to autoinflammation in the immunopathogenesis of Behcet's disease, 2012 Seoul National University-Hokkaido University Joint Symposium in Ophthalmology 2012/10/19, Sapporo (Hokkaido University), Japan
8. Ohno S, Epidemiology and genetics of Behcet's disease, Behcet's Disease Symposium; How to differentiate Behcet's disease from other types of uveitis, 2012/10/19, Sani (Sani Beach Resort), Greece
9. Ohno S, Silk route disease: epidemiology and genetics, International meeting of collaborative studies on Behcet's disease and other uveitis entities, 2012/10/16, Rome (ローマ大学), Italy
10. Ohno S, Anti-TNF therapy for intractable uveoretinitis in Behcet's disease, 15th International Conference on Behcet's Disease, 2012/07/14, Yokohama (パシフィコ横浜), Japan
11. Ohno S, Diagnosis and treatment of allergic conjunctivitis, 16th Afro Asian Congress of Ophthalmology 2012/06/15, Istanbul (HARBIYE MILITARY MUSEUM), Turkey
12. Ohno S, Ocular lesions in Behcet's disease, 16th Afro Asian Congress of Ophthalmology 2012/06/13, Istanbul (HARBIYE MILITARY MUSEUM), Turkey
13. Ohno S, Epidemiology of allergic conjunctival diseases in Japan, 1st Conference on the Tear Film and Ocular Surface in Asia, 2012/04/04, Kamakura (Kenchoji), Japan
14. Ohno S, Namba K, Kitaichi N, Mizuki N, Treatment of Behcet's disease with infliximab. 3rd Japan-Korea Symposium on Behcet's Disease, Behcet's Disease Study Group, Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan, 2011/12/16, パシフィコ横浜 (横浜)
15. Ohno S, Namba K, Kitaichi N, Mizuki N, Infliximab therapy of Behcet's disease, 3rd International Uveitis Symposium, 2011/12/2, 重慶カールトンホテル (中国)
16. Ohno S, Kitaichi N, Meguro A, Mizuki N, Isogai E, Epidemiology of Behcet's disease. Session; Behcet's Disease: An Update and Future Prospects, 11th International Ocular Inflammation Society (IOIS) Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/15, Hotel Taj Exotica (India)
17. Ohno S, Namba K, Iwata D, Kitaichi N, Mizuki N, Update of anti-TNF alpha therapy in Behcet's disease, Italian Society of Uveitis and Inflammatory Ocular Diseases, (SIUMIO) / 11th International Ocular Inflammation Society (IOIS) Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/15, Hotel Taj Exotica (India)
18. Ohno S, Introduction, Conclusions and Future, Workshop on Epidemiology and Diagnosis of Behcet's Disease, First Workshop of (IOBDSG) / 11th IOIS Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/14, Hotel Taj Exotica (India)
19. Ohno S, Panel Discussion with Chee SP, Goto H, Rao NA, Future studies and conclusions, The 7th International Workshop of Vogt-Koyanagi-Harada Disease and Sympathetic Ophthalmia / 11th IOIS Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/14, Hotel Taj Exotica (India)
20. Ohno S, Panel Discussion with Chee SP, Goto H, Rao NA, Future studies and conclusions, The 7th International Workshop of Vogt-Koyanagi-Harada Disease and Sympathetic Ophthalmia / 11th IOIS Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/14, Hotel Taj Exotica (India)
21. Ohno S, Mizuuchi K, Namba K, Kitaichi N, Horie Y, Trabecular depigmentation in convalescent stage of VKH disease, The 7th International Workshop of Vogt-Koyanagi-Harada Disease and Sympathetic Ophthalmia / 11th IOIS Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies,

- 2011/11/14, Hotel Taj Exotica (India)
22. Ohno S, Namba K, Kitaichi N, Classification and diagnostic criteria for Behcet's disease, 11th IOIS Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/14, Hotel Taj Exotica (India)
  23. Ohno S, Namba K, Kitaichi N, Managing ocular manifestations of systemic diseases with local therapy: Is it possible?, 11th IOIS Congress and International Assembly of Ocular Inflammation Societies, 2011/11/13, Hotel Taj Exotica (India)
  24. Ohno S, Mizuki N, Molecular genetics of uveitis, International Symposium on Recent Trends in Uveitis, 2011/11/18, LV Prasad Eye Institute (India)
  25. Ohno S, Namba K, Corticosteroid therapy of uveitis and intraocular inflammation, International Symposium on Recent Trends in Uveitis, 2011/11/18, LV Prasad Eye Institute (India)

〔図書〕(計2件)

1. 北市伸義, 大野重昭, 診断と治療社、小児感染症学、2011、396
2. 北市伸義, 大野重昭, じほう、治療薬ハンドブック 2011、2011、1427

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)  
取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

大野 重昭 (OHNO, Shigeaki)  
北海道大学・大学院医学研究科・特任教授  
研究者番号：50002382

(2)研究分担者

石田 晋 (ISHIDA, Susumu)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号：10245558

南場 研一 (NAMBA Kenichi)  
北海道大学・大学病院・講師  
研究者番号：70333599

北市 伸義 (KITAICHI Nobuyoshi)  
北海道大学・医学研究科・客員准教授  
研究者番号：40431366

目黒 明 (MEGURO, Akira)  
横浜市立大学・医学研究科・特任助教  
研究者番号：60508802

(3)連携研究者

水木 信久 (MIZUKI, Nobuhisa)  
横浜市立大学・医学研究科・教授  
研究者番号：90336579

澤崎 達也 (SAWASAKI, Tatsuya)  
愛媛大学・無細胞生命科学工学研究センター・准教授  
研究者番号：50314969