

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861621

研究課題名(和文) HTLV-1ぶどう膜炎における分子標的治療の開発

研究課題名(英文) Development of molecular targeted therapy for HTLV-1 uveitis

研究代表者

鴨居 功樹 (Kamoi, Koju)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40451942

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：HTLV-1ぶどう膜炎における分子標的治療の開発のために、眼内炎症発症に関与するサイトカイン・ケモカインの同定を行った。血液眼柵に深く関与する網膜色素上皮細胞とHTLV-1感染細胞の接触によって生じるサイトカイン・ケモカインを網羅的に測定したところ、炎症性サイトカインIL-6, IL-8とケモカインMCP-1, RANTESが深く関与することが明らかになった。またHTLV-1ぶどう膜炎の合併症に多い緑内障の発症に関与する線維柱帯細胞とHTLV-1感染細胞との接触でも同様な傾向がみられ、本疾患における治療のための分子標的を特定することができた。

研究成果の概要(英文)：For development of the molecular targeted therapy for HTLV-1 uveitis, this study investigated the effect of HTLV-1 infected cells on ocular tissues. As the blood-retinal barrier is formed at retinal pigment epithelium (RPE) cell layer, the inflammatory change that caused by the contact between HTLV-1 infected cells and the retinal epithelium (RPE) cells were investigated. It was revealed that the contact could significantly increase the protein level of inflammatory cytokines and chemokines (IL-6, IL-8, MCP-1, RANTES).

Uveitic glaucoma is a common complication of HTLV-1 uveitis, therefore it is possible that HTLV-1 infected T-cells could have had an effect on the trabecular meshwork. Through the investigation, the same tendency was seen in the production of inflammatory cytokines and chemokines in the contact between HTLV-1 infected cells and trabecular meshwork. This study revealed key molecular targets to suppress intraocular inflammation caused by HTLV-1.

研究分野：眼科学

キーワード：HTLV-1 ぶどう膜 眼内炎症 レトロウイルス ぶどう膜炎

1. 研究開始当初の背景

ヒト T 細胞性白血病ウイルス (HTLV-1) は、成人 T 細胞性白血病、HTLV-1 ぶどう膜炎の原因ウイルスである。HTLV-1 は感染後、長期に及ぶ潜伏期間を経て感染細胞を腫瘍化する。潜伏感染期間中に生じる HTLV-1 ぶどう膜炎は HTLV-1 キャリア患者にとって視力を脅かす大きな問題である。HTLV-1 ぶどう膜炎の基礎研究は、一連の HTLV-1 ぶどう膜炎の研究で HTLV-1 感染細胞からの炎症性サイトカインにより惹起されることが明らかにされているが、その後の基礎研究は進んでおらず、発症機構の詳細は不明なままである。現在唯一の治療であるステロイド投与は副作用を引き起こし、またステロイドは感染細胞を腫瘍化する可能性があり、ステロイドに変わる治療法の確立が急務である。現在までに HTLV-1 ぶどう膜炎に対して発症機序を考慮した分子標的治療法の報告はなく、本研究で標的となる分子が明らかになれば、新規治療法の開発につながると考えた。

2. 研究の目的

現在まで HTLV-1 感染によって発症する眼炎症 (HTLV-1 ぶどう膜炎) の詳細な機構は解明されていないが、臨床的に HTLV-1 ぶどう膜炎はキャリア患者、すなわち潜伏感染期間中に起きる眼炎症であるため、エピジェネティクス機構が眼炎症に関与する可能性は高く、つまり HTLV-1 感染によって T 細胞内のエピジェネティック分子を含めた分子機構に影響を与え、さらに感染細胞が眼組織と接触することで、ぶどう膜炎の発症に関与があるのではないかという考え、眼内炎症を惹起に関与するサイトカイン・ケモカインの特定を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

HTLV-1 ぶどう膜炎における新たな治療標的分子を明らかにするために、眼内炎症惹起に関与する眼内組織である網膜色素上皮細胞 (ARPE-19) と HTLV-1 感染細胞 (MT2, Tl-om1) の共培養を行い、cytometric beads array でサイトカイン・ケモカインを網羅的に測定すると共に、RPE の RNA 抽出を行い、RT-PCR 法を用いて測定を行った。

同様に、HTLV-1 ぶどう膜炎に多くみられる合併症である続発緑内障に関与する眼内組織である線維柱体細胞 (HTMC) を用いて同様に HTLV-1 感染細胞との共培養で生じるサイトカイン・ケモカインを測定することで、病因に関与する分子の同定を行う。

4. 研究成果

HTLV-1 感染細胞株でウイルス粒子を持続的に放出する MT2 とヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE19 を、トランスウェルを用いて 48 時間共培養した。RPE への HTLV-1 の感染の有無は、共培養後、RPE の RNA 抽出を行い、RT-PCR 法を用いて測定を行った。培養上清中の炎症性サイトカインおよびケモカインは cytometric beads array 法を用いて測定した。

MT2 と共培養後、RPE の RNA を抽出し、HTLV-1 ウイルスの pol 領域の PCR を行ったところ、HTLV-1 ウイルスの検出が認められた。続いて、培養した上清の炎症性サイトカインとして、IL-6 を測定したところ、RPE、コントロール T 細胞株の Jurkat、MT2 において、それぞれ単独で IL-6 の産生はある程度みられたが、RPE と MT2 を共培養した時の IL-6 の産生量は、それらに比較し有意な上昇がみられた。TNF- α

においては、RPE、Jurkat からの産生はないものの、MT2 からの産生は認められた。RPE と MT2 の共培養では、MT2 と比較して、有意な産生はなかった。また、炎症性サイトカイン IL-1 β と IL-12p70 はすべての上清から検出されなかった。続いて抑制性サイトカインの IL-10 は、RPE や MT2 からの産生はみられず、RPE と MT2 の共培養でも産生はみられなかった。

続いてケモカインの産生を測定した。はじめに CCL2 においては、RPE や MT2 単独に比べ、RPE と MT2 の共培養で有意に多く産生されることが明らかになった。CCL5 は、RPE から産生はなく、MT2 で産生がみられた。これに比較し、RPE と MT2 の共培養で有意に多くの産生がみられた。CXCL8 については、MT2 からの産生はみられず、RPE からの産生と比較し、RPE と MT2 の共培養で著名に上昇することが明らかになった。CXCL10 においては、RPE からの産生はなく、また MT2 の産生量と比較し、RPE と MT2 の共培養で有意な増加はなかった。CXCL9(MIG) については、すべての上清から検出できなかった。

以上まとめると、HTLV-1 感染細胞と網膜色素上皮細胞が接触することで惹起する炎症性サイトカインとして、IL-6,IL-8 の産生が著しく上昇する一方、抑制性サイトカイン IL-10 の上昇はみられなかった。他にも TNF α , IL-1 , IL-12p70 の変化はみられなかった。また、ケモカインでは、MCP-1,RANTES の著大な上昇がみられた。

眼内炎症惹起の機序の考察として、HTLV-1 感染細胞による RPE へのウイルス感染や、感染細胞由来の液性因子などにより、眼内の IL-6 濃度が上昇し、

眼内浸潤 T 細胞の活性化に關与する可能性が示唆された。同様の機序で CCL2 (MCP-1) , CCL5 (RANTES), CXCL8(IL-8)が上昇することで、炎症細胞を眼内に呼び込み、炎症のさらなる惹起と維持に關与する可能性が示唆された。

続いて、HTLV-1 感染細胞と線維柱体細胞が接触することによって生じる変化を測定したところ、炎症性サイトカインでは IL-6, IL-8 の産生が上昇し、TNF α の産生が低下することが明らかになった。ケモカインにおいては MCP-1 の上昇がみられた。HTLV-1 感染細胞は眼内組織と接触する場合、複数の眼内組織において共通するサイトカイン・ケモカインを産生することから、HTLV-1 ぶどう膜炎における治療標的となる分子を幾つか特定することができた。

また、現在 HTLV-1 感染によって起こる成人 T 細胞白血病、HTLV-1 関連脊髄症において治療が行なわれている抗 CCR4 抗体 (Mogamulizumab) を眼局所に投与することによって、上記サイトカイン・ケモカインを抑制することができるか検討したところ、HTLV-1 感染細胞由来のサイトカイン・ケモカインは抑制できるが、眼内組織との接触で生じるサイトカイン・ケモカインの抑制は限定的であった。

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 16 件)

1. Kamoi K, Nagata Y, Mochizuki M, Kobayashi D, Ohno N, Uchimaru K, Tojo A, Ohno-Matsui K. Formation of Segmental Rounded Nodules During

Infiltration of Adult T-Cell Leukemia Cells Into the Ocular Mucous Membrane. *Cornea*. 2016;35:137-9. 査読有.

2. 鴨居功樹. 感染性眼内炎. *眼科*. 2016;58:301-396. 査読無.

3. 鴨居功樹, 大野京子. 眼炎症疾患における診療の進歩. *日本医事新報*. 2016. 4789: 57-57. 査読無.

4. 宮永 将, 高瀬 博, 川口 龍史, 鴨居功樹, 清水 健太郎, 横田 眞子, 杉田直, 望月 學. 東京医科歯科大学眼科におけるぶどう膜炎臨床統計 1998年~2001年と2007年~2011年の比較 *日本眼科学会雑誌*. 2015.10; 119 (10): 678-685. 査読有.

5. 尾崎 憲子, 川口 龍史, 村上 喜三雄, 鴨居功樹, 高瀬 博, 杉田 直. 造血器悪性疾患に合併した眼底病変に対する包括的感染症 PCR の有用性 *臨床眼科*. 2015.09; 69 (9): 1323-1327. 査読有.

6. 鴨居功樹. 後極白内障における新しい核分割法 (Pre-Surround Division Technique). *あたらしい眼科*. 2015.08; 32 (8): 1143-1144. 査読無.

7. Kamoi K. Pre-Surround Division. *Cataract & Refractive Surgery Today Europe*. 2015.06; 28-30. 査読無.

8. Kamoi K. New effective surgical technique for patients with posterior polar cataracts. *Cataract News Today*. 2015.03; 査読無.

9. Kamoi K. Pre-surround division technique devised for posterior polar cataract surgery. *Ocular Surgery News U.S. Edition*. 2015.02; 査読無.

10. Takase H, Kubono R, Terada Y, Imai A, Fukuda S, Tomita M, Miyanaga M, Kamoi K, Sugita S, Miyata K, Mochizuki M. Comparison

of the ocular characteristics of anterior uveitis caused by herpes simplex virus, varicella-zoster virus, and cytomegalovirus. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2014.11; 58 (6): 473-482. 査読有.

11. Kamoi K, Mochizuki M. Pre-surround division technique: Precise cracks surrounding the posterior opacity prior to phacoemulsification in posterior polar cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 2014; 40 : 1764-1767. 査読有.

12. Kaburaki T, Namba K, Sonoda KH, Kezuka T, Keino H, Fukuhara T, Kamoi K, Nakai K, Mizuki N, Ohguro N; Ocular Behçet Disease Research Group of Japan. Behçet's disease ocular attack score 24: evaluation of ocular disease activity before and after initiation of infliximab. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2014.03; 58 (2): 120-130. 査読有.

13. Kawaguchi T, Kawazoe Y, Kamoi K, Miyanaga M, Takase H, Sugita S, Mochizuki M. Clinical course of patients with Behçet's uveitis following discontinuation of infliximab therapy. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2014.01; 58 (1): 75-80.

14. 鴨居功樹, 望月 學. ぶどう膜炎 小児科. 2013.05; 54 (6): 863-869. 査読無.

[学会発表](計28件)

1. 鴨居功樹. HTLV-1 感染と眼疾患. 東京眼科集談会 特別講演 2015.11.25 千代田放送会館. (東京都・千代田区.)

2. 高橋洋如, 高瀬博, 新井文子, 寺田裕紀子, 鴨居功樹, 望月 學, 大野京子. 両眼性肉芽腫性汎ぶどう膜炎像を呈し

た EB ウイルス陽性 T リンパ増殖症の 2 例. 第 65 回日本臨床眼科学会 2015.10.23 名古屋国際会議場. (愛知県・名古屋市.)

3. 鴨居功樹, 岡山昭彦, 大野京子. HTLV-1 ぶどう膜炎の診療に関する全国アンケート調査. 第 69 回日本臨床眼科学会 2015.10.22 名古屋国際会議場. (愛知県・名古屋市.)

4. 鴨居功樹, 岡山昭彦, 大野京子. ATL 関連眼疾患に関する診療の現状: 全国アンケート調査結果. 第 2 回日本 HTLV-1 学会 2015.08.23 東京大学医科学研究所. (東京都・港区.)

5. 今井彩乃, 高瀬博, 松田剛, 今留謙一, 鴨居功樹, 望月學, 大野京子, 新井文子. 脳病変より節外性 NK/T 細胞リンパ腫と確定診断された EB ウイルス陽性ぶどう膜炎の 1 例. 第 49 回日本眼炎症学会 2015.07.11 コングレコンベンションセンター. (大阪府・大阪市)

6. Kamoi K, Guo Z, Horie S, Ohno-Matsui K. The role of HTLV-1 infected RPE cells in the pathogenesis of HTLV-1 uveitis. ARVO Annual Meeting 2015.05.05 Denver (U.S.A.)

7. Horie S, Kamoi K, Guo Z, Ohno-Matsui K. Character of PMA-Stimulated THP-1 Cells under Ocular Diabetic Condition. ARVO Annual Meeting 2015.05.05 Denver (U.S.A)

8. 鴨居功樹, 郭翌蓉, 堀江真太郎, 大野京子. HTLV-1 ぶどう膜炎の発症における網膜色素上皮細胞への HTLV-1 感染の関与. 第 119 回日本眼科学会総会 2015.04.17 ロイトン札幌. (北海道・札幌)

9. 井出光広, 鴨居功樹, 望月學, 大野京子. 東京における HTLV-1 ぶどう膜炎

の臨床的特徴. 第 119 回日本眼科学会総会 2015.04.16 ロイトン札幌. (北海道・札幌)

10. Klaska IP, Kuffova L, Kamoi K, Bobu C, Martin-Granados, Steinman R, Forrester JV. Targeted delivery of self-antigen to dendritic cells attenuates uveoretinitis in mice. Keystone Symposia 2015.3.09. Montreal. (Canada.)

11. Kamoi K, Terada Y, Miyata K, Mochizuki M, Ohno-Matsui K. Analysis of complications in patients with HTLV-1 uveitis. Asia-ARVO 2015.02.17 Yokohama. (Japan)

12. 平野光人, 大野伸広, 小林誠一郎, 石垣知寛, 田野崎隆二, 鴨居功樹, 望月學, 内丸薫, 東條有伸. 急性型 ATL と HTLV-1 ぶどう膜炎の同時発症の 1 例. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会 2014.08.22 東京大学医科学研究所. (東京都・港区.)

13. 寺田裕紀子, 鴨居功樹, 山野ちなみ, 山野嘉久. HTLV-1 キャリアに合併した関節リウマチにおける生物学的製剤の使用で HTLV-1 ぶどう膜炎と HTLV-1 関連脊髄症が悪化した 1 例. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会 2014.08.22 東京大学医科学研究所. (東京都・港区.)

14. 鴨居功樹, 寺田裕紀子, 宮田和典, 望月學. HTLV-1 ぶどう膜炎の臨床像. 第 1 回日本 HTLV-1 学会学術集会 2014.08.22 東京大学医科学研究所. (東京都・港区.)

15. 軽部央子, 鴨居功樹, 堀江真太郎, 高瀬博, 大野京子, 望月學. アダリムマブ導入でベーチェット病のぶどう膜炎を抑制できた一例. 第 48 回日本眼炎症学会 2014.07.04 東京国際フォーラム. (東京都・千代田)

16. Kamoi K, Terada Y, Miyata K, Mochizuki M. Association of HTLV-1 uveitis with systemic inflammatory diseases and adult T cell leukemia. The Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting 2014.05.07 Orlando.(USA)

17. 鈴木 さやか, 鴨居 功樹, 高瀬 博, 大野 京子, 富澤 大輔. Myeloid/NK cell precursor acute leukemia の経過中に眼内浸潤がみられた1例. 第118回日本眼科学会総会 2014.04.02 東京国際フォーラム.(東京都・千代田)

〔図書〕(計 2件)

1. Kamoi K, Mochizuki M. HTLV-1 uveitis. Intraocular Inflammation. Springer, 2016. 1609p (1197-1201p).

2. 鴨居 功樹. ぶどう膜炎に続発する緑内障. 緑内障診療クローズアップ. メディカルビュー社, 2014. 276p (226-233p)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
鴨居 功樹. HTLV-1 と眼の病気, キャリねっと: HTLV-1 キャリア登録サイト 2016年01月

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鴨居 功樹 (Kamoi, Koju)
東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 40451942

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: