

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462639

研究課題名(和文) サイトメガロウイルス角膜内皮炎の発症機序に対する免疫学的機能解析

研究課題名(英文) The immunological analysis for the development mechanism of the cytomegalovirus corneal endotheliitis

研究代表者

山田 直之 (YAMADA, Naoyuki)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：70437630

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：サイトメガロウイルス(CMV)角膜内皮炎の前房水中のサイトカインをBio-Plexを用いて解析した。単球を遊走させるケモカインであるIP-10, MCP-1などの上昇を認めた。これらの結果はCMV角膜内皮炎の発症および再発の機序にマクロファージの関与を疑わせるものであった。鑑別疾患であるHSV角膜炎, VZV角膜炎, 角膜移植後拒絶反応についても前房水の解析を行った。これらの疾患でもIP-10やMCP-1の上昇を認め、CMV角膜内皮炎よりも高い傾向にあった。このことは、CMV角膜内皮炎は鑑別疾患に比し炎症は強くないことを示唆するものであった。

研究成果の概要(英文)：We analyzed chemokines in the aqueous humor from CMV corneal endotheliitis by Bio-Plex. The concentrations of IP-10 and MCP-1 which are monocyte chemoattractant were rising. These results showed the involvement of the macrophage for the development and recurrence of the CMV corneal endotheliitis. We also analyzed chemokines in the aqueous humor from HSV corneal endotheliitis, VZV corneal endotheliitis, and corneal graft rejection by Bio-Plex. In these diseases, the concentrations of IP-10 and MCP-1 were much higher than CMV. These results showed that the inflammation of CMV corneal endotheliitis is milder than other diseases.

研究分野：眼科学

キーワード：サイトメガロウイルス 緑内障 水疱性角膜症 マクロファージ 移植免疫

1. 研究開始当初の背景

サイトメガロウイルス角膜内皮炎は眼内での炎症や眼圧上昇を繰り返し、徐々に角膜内皮細胞が減少して水疱性角膜症に至る。また、同時に眼圧上昇による緑内障のため視野障害も進行する。水疱性角膜症に至った場合は角膜移植を行わざるを得ないが、術後も同様の炎症を繰り返し、再移植が必要になる症例もある。しかしながら、本疾患の発症機序については未だほとんど知られていない。一方、サイトメガロウイルス角膜内皮炎の存在が提唱される以前から、我々はこのような経過をたどる水疱性角膜症の患者を多く経験してきた。これらの患者の中には実際にサイトメガロウイルス角膜内皮炎であった者が多数含まれていたのではないかと推測しており、潜在的にもっと多くのサイトメガロウイルス角膜内皮炎患者がいるのではないかと考えている。サイトメガロウイルス角膜内皮炎の確定診断には、その特徴的な臨床所見と前房水を採取し PCR 法にて CMV ウイルス DNA を検出する必要がある。しかしながら、臨床的に明らかにサイトメガロウイルス角膜内皮炎と考え、実際にガンシクロビルが著効した症例のなかにも、前房水からの PCR で CMV ウイルス DNA が検出されなかった症例も経験している。ゆえに、サイトメガロウイルス角膜内皮炎の確定診断の方法も現状で十分とは言えず、他の方法の開発も必要と言える。また、鑑別疾患として類似の前眼部炎症所見を呈する単純ヘルペスウイルス角膜炎、帯状疱疹ウイルス角膜炎、角膜移植後拒絶反応などがあり、臨床的にサイトメガロウイルス角膜内皮炎との鑑別が困難なケースも珍しくない。以上のようにサイトメガロウイルス角膜内皮炎は提唱され始めたばかりでその発症機序を含め、実態についてはまだ分かっていない。我々は、本疾患の発症機序の解明を目的に前房水中のサイトカインについて免疫学的機能解析を行う。

2. 研究の目的

サイトメガロウイルス角膜内皮炎は、近年提唱され始めた疾患であるため、まだその病態が十分に解明されているとは言えない。正しい診断と治療が早期に的確に行われなければ緑内障や、水疱性角膜症を引き起こすこととなる。診断に苦慮する症例も多く、特に角膜移植後の症例では拒絶反応との鑑別が難しい。我々は、角膜移植後の症例でステロイド点眼を減量した直後にサイトメガロウイルス角膜内皮炎を発症した症例を複数例経験してきた。感染症であるはずのサイトメガロウイルス角膜内皮炎がなぜステロイドを減量したにも関わらず発病したのか、何らかの免疫学的機序が関与していると思われる。今回、前房水中のサイトカインについて免疫学的機能解析を行い、サイトメガロウイルス角膜内皮炎の発症機序を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

サイトメガロウイルス角膜内皮炎患者から前房水を採取する。比較対象として単純ヘルペスウイルス角膜炎、帯状疱疹ウイルス角膜炎、角膜移植後拒絶反応、その他の前眼部炎症性疾患からも併せて前房水を採取する。多種の生体分子を同時に定量・検出することができる Bio-Plex™ を用いて前房水中のサイトカインの発現を評価する。この発現パターンが何によるのか、それぞれの疾患の臨床病期や重症度との相関が無いかが併せて検討する。以上のことからサイトメガロウイルス角膜内皮炎の診断技術の向上や本疾患がステロイド減量により発症したメカニズムの解明や新規治療につながる病態理解を目指す。

4. 研究成果

サイトメガロウイルス (CMV) 角膜内皮炎の前房水中のサイトカインを Bio-Plex を用いて解析した。単球を遊走させるケモカインである IP-10, MCP-1 などの上昇を認めた。これらの結果は CMV 角膜内皮炎の発症および再発の機序にマクロファージの関与を疑わせるものであった。鑑別疾患である HSV 角膜炎, VZV 角膜炎, 角膜移植後拒絶反応についても前房水の解析を行った。これらの疾患でも IP-10 や MCP-1 の上昇を認め、CMV 角膜内皮炎よりも高い傾向にあった。このことは、CMV 角膜内皮炎は鑑別疾患に比し炎症は強くないことを示唆するものであった。実際に、CMV 角膜内皮炎の症例を診察すると前房内の炎症の程度は非常に弱い場合が多く、臨床における印象とは一致している。また、CMV 角膜内皮炎の症例と CMV 角膜内皮炎の既往のある症例では IL-6 や IP-10 の値は前者で大きく、後者で小さかった。同様に、HSV 角膜炎の症例と HSV 角膜内皮炎の既往のある症例でも IL-6 や IP-10 の値は前者で大きく、後者で小さかった。これらの値は、病勢を忠実に反映している可能性が示唆された。

IL-6 は特に HSV 角膜炎で著明に上昇していた。また、IP-10 は特に VZV 角膜炎, HSV 角膜炎で上昇していた。

これらの比 (IL-6/IP-10) を比べると、大きいものが角膜移植後拒絶反応や HSV 角膜炎であった。中程度 (1) のものが CMV 角膜内皮炎であった。また、小さいものが VZV 角膜炎であった。これらの IL-6/IP-10 比については、確定診断に有用である可能性が示唆された。

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5件)

山田直之: 角膜ジストロフィの遺伝子診断 臨床眼科 71(2):164-174 2017.2. 査読有

Morishige N, Morita Y, Yamada N, Sonoda KH : Differential Changes in Intraocular Pressure and Corneal Manifestations in Individuals With Viral Endotheliitis After Keratoplasty . Cornea 35(5) : 602-606 , 2016.5 . 査読有
DOI: 10.1097/ICO.0000000000000794
Morita Y, Morishige N, Yamada N, Ohta M, Sonoda KH, Nishida T: Recovery of the Corneal Stroma Associated With Rapid Reepithelialization Induced by the Fibronectin-Derived Peptide PHSRN in 2 Cases of Corneal Perforation Due to a Persistent Epithelial Defect . Cornea 34(11) : 1504-1507 , 2015 . 査読有
DOI:10.1097/ICO.0000000000000592
Morishige N, Shin-gyou-uchi R, Azumi H, Ohta H, Morita Y, Yamada N, Kimura K, Takahara A, Sonoda KH : Quantitative Analysis of Collagen Lamellae in the Normal and Keratoconic Human Cornea by Second Harmonic Generation Imaging Microscopy . Invest Ophthalmol Vis Sci 55(12) : 8377-8385 , 2014 . 査読有
DOI:10.1167/iovs.14-15348
Morishige N, Morita Y, Yamada N, Nishida T, Sonoda KH : Congenital hypoplastic trigeminal nerve revealed by manifestation of corneal disorders likely caused by neural factor deficiency . Case Rep Ophthalmol 5(2) : 181-185 , 2014 . 査読有
DOI:10.1159/000364899

〔学会発表〕(計 17 件)

山田 直之: 角膜疾患の最近の治療 . 第 12 回やまぐち眼科スタッフ講習会, 山口県 (山口県総合保健会館), 2017/03/26
筒井 紗季, 森 賢一郎, 内 翔平, 守田 裕希子, 山田 直之, 柳井 亮二, 木村 和博: 山口大学における感染性角膜炎に対する網羅的 PCR の経験 . 第 174 回九州大学眼科研究会, 福岡県 (九州大学), 2017/03/18
守田 裕希子, 山田 直之, 森重 直行, 西田 輝夫, 木村 和博: 糖尿病動物モデルを用いたフィブロネクチン部分ペプチド PHSRN 点眼の角膜上皮欠損治療促進効果の検討 . 第 21 回眼科分子生物学研究会, 山口県 (ホテルかめ福), 2017/03/11
筒井 紗季, 森 賢一郎, 岩本 菜奈子, 内 翔平, 守田 裕希子, 山田 直之: 診断に苦慮した両眼性角膜炎の一例 . 第 128 回山口県眼科医会秋季総会並びに集談会, 山口県 (翠山荘), 2016/11/13
太田 真実, 守田 裕希子, 山田 直之, 森重 直行: 病巣部の calcification を切除し治療した角膜上皮欠損の一例 . 第 70 回日本臨床眼科学会, 京都府 (国立京

都国際会館), 2016/11/05
岩本 菜奈子, 守田 裕希子, 山田 直之, 森重 直行: 角膜移植後眼球破裂の重症度分類の提案 . 第 70 回日本臨床眼科学会, 京都府 (国立京都国際会館), 2016/11/03
森 賢一郎, 守田 裕希子, 山田 直之, 森重 直行: 治療的角膜移植の治療成績について . 第 62 回山口眼科手術懇話会, 山口県 (霜仁会館), 2016/10/08
森 賢一郎, 守田 裕希子, 山田 直之, 森重 直行, 園田 康平: 山口大学における治療的角膜移植の治療成績 . 第 54 回六大学合同眼科研究会, 福岡県 (九州大学), 2016/09/03
山田 直之: 角膜ジストロフィの治療戦略 ~ 遺伝子治療の可能性も含めて ~ . 第 10 回西日本オキュラーサーフェスクラブ, 福岡県 (電気ビルみらいホール), 2016/04/02
守田 裕希子, 太田 真実, 山田 直之, 森重 直行, 園田 康平: 角膜移植後に発症した前房内炎症眼の病型と臨床所見 . 角膜カンファランス 2016 第 40 回日本角膜学会総会・第 32 回日本角膜移植学会, 長野県 (軽井沢プリンスウホテルウエスト), 2016/02/18
Morita Y, Morishige N, Yamada N, Okamura N, Ohta M, Teranishi S, Suzuki K, Sonoda KH : Outcome of Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty (DSAEK) in Patients with Previous Trabeculectomy . ARVO 2015, USA (Denver), 2015/05/04
山田 直之: 遷延性角膜上皮欠損に対するペプチド点眼を用いた治療 . 第 119 回日本眼科学会, 北海道 (札幌市教育文化会館), 2015/04/16
山田 直之: サイトメガロウイルス角膜炎・虹彩毛様体炎へのケモカインの関与 . 第 119 回日本眼科学会, 北海道 (札幌市教育文化会館), 2015/04/16
山田 直之, 小林 由佳, 守田 裕希子, 森重 直行, 園田 康平: サイトメガロウイルス角膜内皮炎の 18 例の検討 . 角膜カンファランス 2015, 高知県 (高知市文化プラザかるぼーと), 2015/02/12
山田 直之: 角膜移植について . 第 560 回宗像臨床イベント学術講演会, 福岡県 (大島眼科病院), 2014/11/21
山田 直之, 小林 由佳, 守田 裕希子, 森重 直行, 園田 康平: 当院におけるサイトメガロウイルス角膜内皮炎症例の検討 . 第 124 回山口県眼科医会秋季総会並びに集談会, 山口県 (セントコア山口), 2014/11/09
Yamada N, Morita Y, Teranishi S, Morishige N, Sonoda KH : Evaluation of cytokines in the aqueous humor of patients with cytomegalovirus corneal endotheliitis after penetrating

keratoplasty . WOC2014 , 東京都 (東京国際フォーラム) , 2014/04/02

〔 図書 〕 (計 3 件)

山田 直之 , 金原出版 , 眼科 , 2016 , 1118 (1047-1054)

山田 直之 , メディカルビュー社 , 一目でわかる眼疾患の見分け方 , 2016 , 224 (114-114)

森重 直行 , 山田 直之 , 中山書店 , 専門医のための眼科診療クオリファイ , 2014 , 311 (66-73)

〔 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

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山田 直之 (YAMADA , Naoyuki)
山口大学 ・ 大学院医学系研究科 ・ 講師
研究者番号 : 7 0 4 3 7 6 3 0

(2) 研究分担者

園田 康平 (SONODA , Koh-Hei)
九州大学 ・ 大学院医学研究院 ・ 教授
研究者番号 : 1 0 2 9 4 9 4 3

木村 和博 (KIMURA , Kazuhiro)
山口大学 ・ 大学院医学系研究科 ・ 教授
研究者番号 : 6 0 3 3 5 2 5 5

森重 直行 (MORISHIGE , Naoyuki)
山口大学 ・ 大学院医学系研究科 ・ 講師
研究者番号 : 4 0 3 4 6 5 6 5

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

()