

令和元年6月16日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16978

研究課題名(和文)サルコイドーシスぶどう膜炎における感染概念からの病態解明

研究課題名(英文)Elucidation of the Pathology of Sarcoid uveitis from the Viewpoint of Infectious Etiology

研究代表者

永田 健児 (Nagata, Kenji)

京都府立医科大学・医学部附属病院・専攻医

研究者番号：00457988

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：サルコイドーシスぶどう膜炎患者では82%の症例においてアクネ菌が網膜内に認められ、アクネ菌がその病態に関与すると考えられた。また、サルコイドーシスぶどう膜炎では硝子体中のHP proteinなどのタンパク質がupregulateしていることがわかった。P. acnesをターゲットとした治療法として抗菌薬治療については抗菌薬の使用法についてさらなる検討が必要である。サルコイドーシスぶどう膜炎に対する硝子体手術では、視力及び中心網膜厚は術前に比較し術後有意に改善し、長期的に有効であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで原因不明とされてきたサルコイドーシスについて感染という観点から眼内組織を用いて解析を行ってきた。これによりアクネ菌がサルコイドーシスぶどう膜炎の発症に関与することを明確に証明した。それとともにアクネ菌の感染という概念から新たな治療として、抗菌薬治療や手術による除去の効果について検討した。手術が視力改善や黄斑浮腫に対し長期的に有効であったことがわかった。抗菌薬についてはさらなる検討を要する。これまでのステロイドのみによる治療に新たな可能性をもたらした。

研究成果の概要(英文)：Our data demonstrated a high ratio of P. acnes detection (82.0%) in retinal biopsy specimen in patients with sarcoid uveitis. This strongly indicated that P. acnes may be a cause of sarcoid uveitis. HP protein was detected as upregulated protein in the vitreous of the patients with sarcoid uveitis. Further studies are needed to determine the efficacy of antibiotic treatment targeting P. acnes for sarcoidosis. Pars plana vitrectomy is highly effective for long-term improvement of visual acuity and macular edema in patients with sarcoidosis.

研究分野：眼科学

キーワード：サルコイドーシス ぶどう膜炎 Propionibacterium acnes 硝子体解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

サルコイドーシスによるぶどう膜炎は硝子体混濁や黄斑浮腫により視力低下し、治療のタイミングを逸すると不可逆性の変化を来す。サルコイドーシスは原因不明で、病理学的に非乾酪性類上皮細胞肉芽腫が見られることを特徴とする多臓器疾患である。その発症機序として、遺伝的素因に加えて、何らかの感染等を契機として肉芽腫性炎症が生ずると考えられており、その誘因としては *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) の関与が考えられている。これは肺やリンパ節の組織で分離培養¹⁾、PCR²⁾で報告されたこと、さらに *P. acnes* に特異的に結合する PAB 抗体を用いた免疫組織化学的検討によりその存在が証明されてきた³⁾。しかしながら *P. acnes* は肺においては常在菌の一種であり、コントロールサンプルからも検出されるため、サルコイドーシスの肺およびリンパ節からの検出に病的意義があるかどうか不明であった。このように病因として *P. acnes* の関与が考えられるが、そのメカニズムの解析は不十分で、ぶどう膜炎においては特にほとんど解明されていない。

これまでに我々は種々のぶどう膜炎の硝子体解析を行ってきた。フローサイトメトリー解析では、硝子体中の T リンパ球の CD4/CD8 比がサルコイドーシスを診断するうえで感度、特異度ともに 90% 以上であり、気管支肺胞洗浄液と比較しても高い診断的価値があることを世界で初めて報告した⁴⁾。またサルコイドーシスによるぶどう膜炎の硝子体中のサイトカインを 27 種類測定し、IP-10、MCP-1、IL-1ra、IL-6、IL-8、VEGF などが対照群に比べて特に濃度が高く黄斑浮腫と関与することを報告した⁵⁾。

感染を病態の中心と考える観点からは、常在菌が存在しない眼内組織による解析は特に有用性が高い。また、現在サルコイドーシスぶどう膜炎を含めたサルコイドーシスの治療法の中心はステロイドであるが、副作用が多く、効果は見られても、再燃することも多い。感染という観点から抗菌薬や手術によるステロイド治療では成し得ない根本的治療としての効果について検討が必要とされる。

(参考文献)

1. Homma JY, et al: Bacteriological investigation on biopsy specimens from patients with sarcoidosis. *Jpn J Exp Med* 48:251-5, 1978
2. Ishige I, et al: Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. *Lancet* 354:120-3, 1999.
3. Negi M, et al. Localization of propionibacterium acnes in granulomas supports a possible etiologic link between sarcoidosis and the bacterium. *Mod Pathol.* 25;1284-97: 2012.
4. Kojima K, Nagata K, et al. The CD4/CD8 Ratio in Vitreous Fluid Is of High Diagnostic Value in Sarcoidosis. *Ophthalmology.* 119; 2386-2392: 2012.
5. Nagata K, et al. Simultaneous Analysis of Multiple Cytokines in the Vitreous of Patients with Sarcoid Uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 53; 3827-3833: 2012.

2. 研究の目的

本研究ではヒトの眼内サンプルを用いて、プロテオミクス解析によりサルコイドーシス特異的抗原タンパク質を解明し、世界に先駆けた新規治療標的の開発を目指す。また、感染の観点から抗菌薬治療や手術の有用性について検討し、治療中の眼内液を解析することで感染から肉芽腫形成に至るメカニズムを解明する。

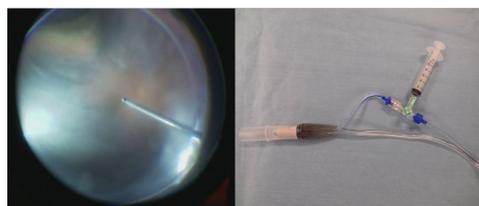
3. 研究の方法

本研究では硝子体手術中あるいは外来にて得たヒトの眼内サンプルを用いてサルコイドーシスによるぶどう膜炎の病態を解析した。硝子体サンプル採取時は、経毛様体扁平部硝子体切除術にて、広角観察システムのもと非灌流下に安全に採取した。前房水に関しては、外来にて 30G 針付きの房水ピペットを用いて採取した。

(1)サルコイドーシスぶどう膜炎の手術時に採取した硝子体液を用いてプロテオミクス解析を行った。

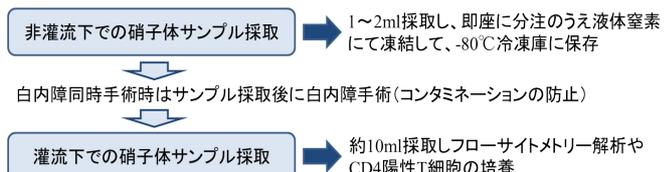
(2) *P. acnes* を標的とした治療を行い、治療の有効性について検討を行った。

【硝子体サンプル採取方法】



広角観察系を用い安全に採取している

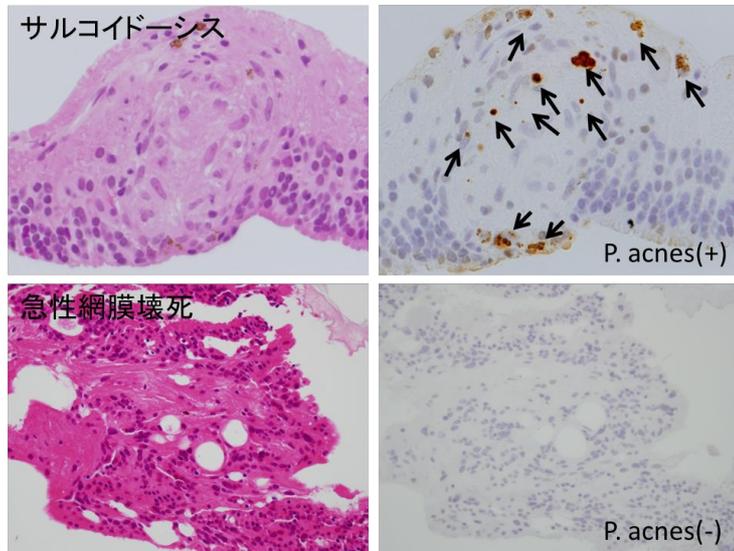
コンタミネーションが生じないよう硝子体カッターに三方活栓を接続し、直接サンプルを採取する



(3) 眼内液を採取し、炎症性サイトカインの変化と臨床像の検討を行った。

4. 研究成果

(1) *P. acnes* が眼サルコイドーシスに関与するかどうか検討するため、網膜生検を実施し *P. acnes* に特異的な PAB 抗体による免疫組織化学での検討を行い、サルコイドーシスの症例は 82% の症例において網膜内に PAB 陽性の円形体を認めた。一方コントロール群では 1 例も検出せず、*P. acnes* の眼サルコイドーシスへの関与を強く示唆する結果が得られた。本研究の論文投稿において、コントロールの追加の必要性を指摘されたため、サルコイドーシス以外のぶどう膜炎症例において追加実験を行った。その結果でもコントロール群では全例で *P. acnes* は検出されず、サルコイドーシスぶどう膜炎に *P. acnes* が関与することがより強調される結果となった。



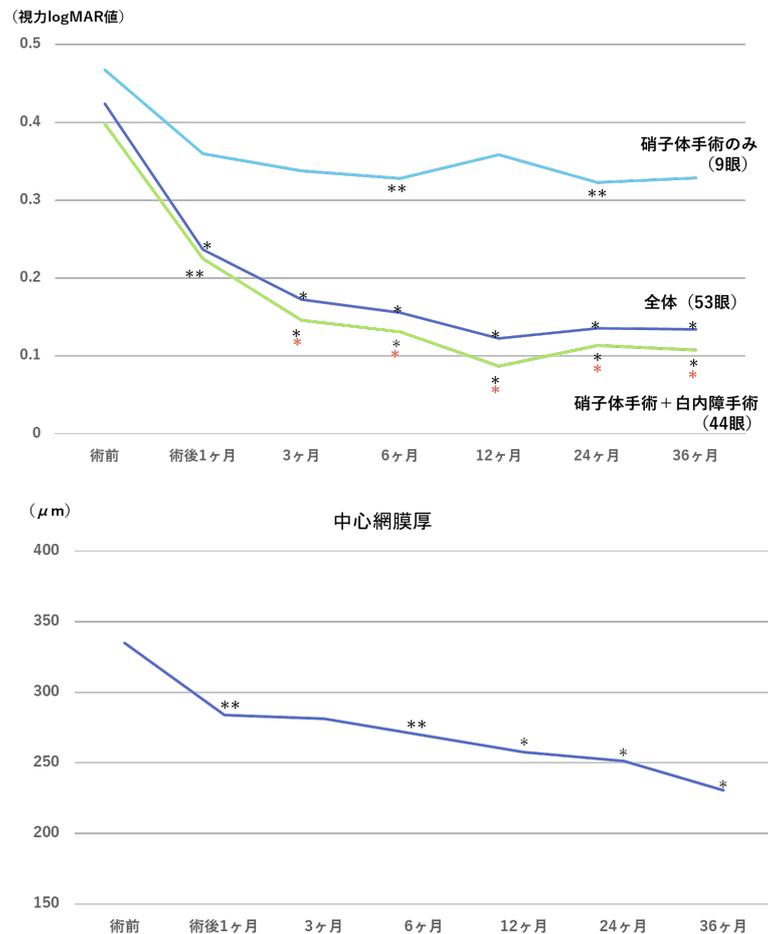
(2) 硝子体液のセルブロックにおいても(1)と同様の免疫組織化学染色手法による検討においてサルコイドーシス症例では *P. acnes* が検出された。これは *P. acnes* を病因抗原とした網膜の炎症反応が硝子体に波及する中で *P. acnes* も波及しているものと考えられる。サルコイドーシスは全身諸臓器に肉芽腫性炎症を来す疾患であるが、その病変部位の拡大には *P. acnes* が関与すると考えられる。

(3) サルコイドーシスぶどう膜炎では硝子体中の HP protein などのタンパク質が upregulate していることがわかった。

(4) *P. acnes* に対する抗菌薬治療としては、クラリスロマイシンを併用した治療を行ったが、その有効性については、他の薬剤の併用など含めてもう少し検討が必要である。

(5) サルコイドーシスぶどう膜炎に対する硝子体手術の長期成績を検討し、視力及び中心網膜厚は術前に比較し術後有意に改善し、術後3年まで維持されており、サルコイドーシスぶどう膜炎に対する硝子体手術は長期的に有効であることがわかった。白内障手術を併施した群では手術前と比較して術後、有意な視力改善が得られただけでなく、術後1か月時点と比べてもそれ以降で視力改善を認めた。

硝子体の除去が *P. acnes* に関する炎症のコントロールに寄与している可能性も考えられる。手術時と比較して術後3カ月では、



Interleukin (IL)-1ra, IL-4, IL-6, IL-9, IL-12, Interferon- γ , Interferon gamma-induced protein (IP)-10, Platelet-derived growth factor (PDGF)-bb, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, Tumor necrosis factor (TNF)- α が有意に低下することがこれまでに分かっており、術後のIL-4, IP-10, PDGF-bb, TNF- α の濃度と中心網膜厚に正の相関を認めている。こういったサイトカインの除去も硝子体手術の有効性に関与していると考えられる。

(6) 臨床的に評価項目として種々の項目を行ってきたが、特に前眼部OCTでは新たな知見としてぶどう膜炎のうちVogt-小柳-原田病や急性前部ぶどう膜炎では毛様体剥離の頻度が高く、その剥離の高さが高いことがわかった。一方でサルコイドーシスでは高さは低く頻度は低いものの毛様体剥離が見られる症例も認められることがわかり、今後さらなる他の臨床像や眼内液との解析を組み合わせることで、病態解明や治療につながる可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

Nagata K, Eishi Y, Uchida K, Yoneda K, Hatanaka H, Yasuhara T, Nagata M, Sotozono C, Kinoshita S. Immunohistochemical Detection of Propionibacterium acnes in the Retinal Granulomas in Patients with Ocular Sarcoidosis. Sci Rep. 査読有、7(1): 15226, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-15710-0.

Maruyama K, Inaba T, Sugita S, Ichinohasama R, Nagata K, Kinoshita S, Mochizuki M, Nakazawa T. Comprehensive analysis of vitreous specimens for uveitis classification: a prospective multicentre observational study. BMJ Open. 査読有、7(11):e014549. 2017. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-014549.

Kitazawa K, Koizumi N, Nagata K, Inatomi T, Sasaki H, Sotozono C. Safety of Anterior Chamber Paracentesis using a 30-gauge Needle integrated with New Disposable Pipet. 査読有、Br J Ophthalmol. 101(5): 548-550, 2017. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2016-309650.

〔学会発表〕(計 8 件)

川崎麻矢, 永田健児, 中野由起子, 関山有紀, 中井浩子, 出口英人, 青木崇倫, 外園千恵. サルコイドーシスぶどう膜炎に対する硝子体手術の長期成績. フォーサム 2018/第 52 回眼炎症学会, 東京, 2018-07-15

青木崇倫, 永田健児, 関山有紀, 中野由起子, 中井浩子, 米田一仁, 外園千恵. アダリムマブを導入した非感染症ぶどう膜炎の症例検討. フォーサム 2018 東京/第 52 回眼炎症学会, 東京, 2018-07-14

Aoki T, Nagata K, Yokoi N, Deguchi H, Sotozono C. Investigation of the Tear Function in Ocular Sarcoidosis. ARVO 2018 Annual Meeting, Honolulu, Hawaii, USA, 2018-05-02

永田健児. シンポジウム: 眼内液からわかる眼炎症の病態「硝子体液を用いたサルコイドーシスの補助診断」. 第 122 回日本眼科学会総会 | シンポジウム 14: 眼内液からわかる眼炎症の病態, 大阪, 2018-04-20

青木崇倫, 永田健児, 横井則彦, 出口英人, 関山有紀, 外園千恵. サルコイドーシスとドライアイの関連性の検討. 角膜カンファランス 2018(第 42 回日本角膜学会総会/第 34 回日本角膜移植学会), 広島, 2018-02-15

Kenji Nagata, Yuki Sekiyama, Koji Kitazawa, Hideto Deguchi, Hi-roko Nakai, Chie Sotozono. Detection of Ciliochoroidal Detachment by Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Vogt-Koyanagi-Harada Syndrome. AAO 2017, New Orleans, LA, USA, 2017-11-12

永田健児, 関山有紀, 出口英人, 中井浩子, 青木崇倫, 北澤耕司, 外園千恵. 活動性ぶどう膜炎における前眼部 OCT での毛様体剥離の検討. 第 71 回日本臨床眼科学会, 東京, 2017-10-12

青木崇倫，永田健児，出口英人，関山有紀，中井浩子，北澤耕司，小嶋健太郎，外園千恵．ぶどう膜炎に併発した脈絡膜新生血管の検討．第71回日本臨床眼科学会，東京，2017-10-12

〔図書〕(計 3 件)

永田健児．【サルコイドーシス アップデート】病因としてのPropionibacterium acnes．眼科 金原出版，60 (11): 1339-1343，2018．

稲葉 亨，永田健児．硝子体細胞解析 フローサイトメトリー．眼科手術 30 (4): 637-641，2017．

永田健児．ぶどう膜炎の合併症 網膜硝子体病変．眼科 金原出版，59 (10): 1041-1046，2017．

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号 (8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。