

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09972

研究課題名（和文）眼内液解析によるフォクト-小柳-原田病の病態解明

研究課題名（英文）Pathophysiology Analysis of Vogt-Koyanagi-Harada Disease by Analysis of Intraocular Fluid

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） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：フォクト-小柳-原田病の発症のトリガーとなる原因候補として髄液中の種々のウイルスの存在を検討したが全て陰性であり、特定の病原体の関与の可能性は低いと考えられた。発症初期には83.3%の眼において毛様体剥離が認められ、2か月以内に消失した。発症時、毛様体も肥厚しており、治療開始後徐々に減少し、2ヶ月でプラトーに達した。前眼部OCTは診断と経過観察に有用である。再燃に関する予後因子は、単変量解析では年齢が高いこと、眼症状自覚から初診までの期間が長いこと、ステロイドパルス療法における後発医薬品の使用が有意なリスク因子であり、ロジスティクス回帰分析により後発医薬品の使用が唯一のリスク因子であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Vogt-小柳-原田病の発症の誘因には特定のウイルスは検出されず、異なる病態を検討する必要がある。髄液で病態にかかわる炎症性サイトカインを同定した。これまで診断・経過観察にほとんど用いられていなかった前眼部OCTが原田病の診断および治療の評価に有用なことが分かった。これによってより良い治療につながると考えられる。また治療にはステロイドパルス療法に後発医薬品を用いた場合、再発のリスクが有意に上昇することが分かった。近年後発医薬品の使用が増えている中で、原田病のような急性期の治療が重要な関しては先発品の使用が望ましいことが分かり、今後の本疾患の予後改善につながる成果である。

研究成果の概要（英文）：The presence or absence of various viral DNA in spinal fluid was examined as a candidate cause for triggering the onset of Vogt-Koyanagi-Harada (VKH) disease, but all were negative, suggesting that a specific pathogen is unlikely to be involved. Ciliochoroidal detachment was detected in 83.3% of eyes at the initial visit and improved within 2 months. The ciliary body was thickened at the onset of VKH disease and gradually decreased with treatment, reaching a plateau within 2 months. Our findings suggest that anterior segment-OCT is useful for diagnosis and follow up. Univariate analysis showed that older age, a longer elapsed time from the awareness of ocular symptoms to initial presentation, and the use of generic drugs for steroid pulse therapy (SPT) were significantly associated with the recurrence of VKH disease. Logistic regression analysis findings revealed that when performing SPT, the use of generic drugs was significantly associated with a higher risk of recurrence.

研究分野：ぶどう膜炎

キーワード：Vogt-小柳-原田病 ぶどう膜炎

## 1. 研究開始当初の背景

フォークト 小柳 原田病 (以下、原田病) はメラノサイトに対する自己免疫疾患で、漿液性網膜剥離を伴うぶどう膜炎を特徴とする疾患である。ぶどう膜炎を発症すると、急激な視力低下を引き起こし、ステロイド治療が行われるが、反応不良の症例や、再燃例では治療に難渋する。またステロイドに反応する症例でも多くの副作用が認められ、治療最適化が必要とされている。これまで原田病における眼内液や髄液を用いた研究はほとんど報告されておらず、実際の眼炎症の病態の解析は全く不十分である。また、HLA-DRB1\*0405 陽性の個体と発症に相関があることがわかっており、その発症にはウイルスの関連を示唆する報告も散見するが、検討は十分には行われておらず、詳細不明である。

我々はこれまでに様々な手法を用いて、ぶどう膜炎における眼内液の解析を行ってきた。サイトカイン、フローサイトメトリー、PCR、眼内組織に対する免疫組織化学、プロテオミクス解析などを行い、サルコイドーシスぶどう膜炎の病態として、アクネ菌が血行性に網膜組織に到達することで(Nagata K, et al. Sci Rep 2017)、CD4 陽性 T リンパ球やマクロファージが網膜内に肉芽腫を形成し、Th1 型の炎症性サイトカインを介して、黄斑浮腫をはじめとする様々な視力低下を引き起こす病態を世界に先駆けて解明してきた(Nagata K, et al. IOVS 2012, Kojima K, Nagata K, et al. Ophthalmology 2012)。こういった病態解明により新たな治療アプローチの開発に至っている。またこれらの解析結果が、ぶどう膜炎の原因疾患の診断にも有用であることを報告してきた。

現在原田病に対する治療選択肢として、ステロイド、シクロスポリン、アダリムマブの使用が可能であるが、それぞれ副作用が多い。また初期治療が重要とされる本疾患であるが、ステロイドへの反応が不良の場合は他の 2 種類の投薬でもコントロールが難しいことも少なくない。このような病態の違いを把握するにあたっては、眼炎症の特徴的所見を眼球全体として把握することが不可欠である。これまで眼底について蛍光眼底造影検査をはじめとする検査が行われてきた。中でも Optical Coherence Tomography (OCT) は非侵襲的検査であり後眼部の炎症を詳細にかつ経時的に観察することが可能である。一方で、前眼部の炎症は十分な評価が行われていない。

### (参考文献)

1. Nagata K, et al. Immunohistochemical Detection of Propionibacterium acnes in the Retinal Granulomas in Patients with Ocular Sarcoidosis. Sci Rep. 7(1): 15226, 2017.
2. 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.
3. 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、原田病患者の前房水や髄液に対してこれらの手法を用いて発症のトリガーや眼炎症の病態を検討する。本研究は原田病発症の契機からそれによって生じる眼内炎症の病態を解析することを目的とする。また、臨床的に原田病の治療予後にかかわる因子について検討する。さらにこれまでの後眼部を中心とした画像検査に加えて、前眼部 OCT を行うことで、眼球の前部から後部まで眼球全体として眼炎症を捉えることを可能とする。こういった画像検査所見と眼内液・髄液の解析から、新たな治療ターゲットを模索するとともに、現在可能な治療を初期治療から最適化することを目標とする。

## 3. 研究の方法

### <フォークト 小柳 原田病における眼内液・髄液のサイトカイン解析>

原田病発症時や再燃時に採取した前房水や髄液を用いて、サイトカインを解析する。サイトカイン解析には multiplex bead analysis system (BioPlex Pro Suspension Array System; BioRad Laboratories) を用い、platelet derived growth factor (PDGF) bb, IL-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, eotaxin, fibroblast growth factor (FGF) basic, granulocyte colony stimulating factor (G-CSF), granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interferon gamma (IFN- $\gamma$ ), IFN- $\gamma$  inducible protein (IP)-10, monocyte chemoattractant protein (MCP) 1, macrophage inflammatory protein (MIP)-1a, MIP-1b, regulated on activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES), tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), vascular endothelial growth factor (VEGF) の 27 種類のサイトカインを同時に解析する。

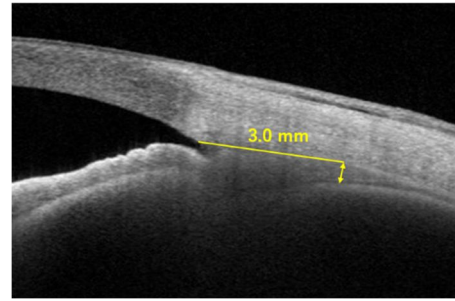
### <原因候補の解析>

発症のトリガーとなる可能性のあるウイルス等の病原体の検討を網羅的に行う。眼内液あるいは髄液を用いて網羅的 PCR を行う。

<臨床評価項目>

種々の臨床経過を診療録から後ろ向きに調査し、治療予後にかかわる因子を検討する。また、視力、眼圧、OCTによる脈絡膜厚と前眼部 OCT による毛様体の変化を比較検討する。

毛様体厚の測定は、強膜岬から 3mm 後方で強膜に対して垂直方向に計測した。測定には前眼部 OCT(CASIA、TOMEY)、OCT(Triton, TOPCON および RS-3000, NIDEK)を使用する。



4. 研究成果

<前房水・髄液のサイトカイン解析>

前房水と髄液について 27 種類のサイトカイン解析を行った。

前房水では、IL-1ra、IL-6、IL-8、G-CSF、IP-10、MCP-1 の上昇を認めた。

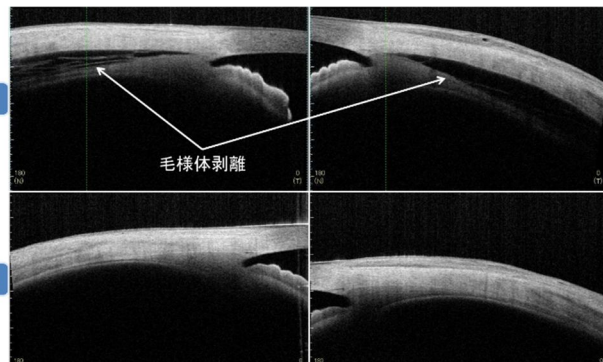
髄液では IL-6 の上昇はなく、IL-8、IP-10、MCP-1 の上昇を認めた。

<原因候補の解析>

フォクト-小柳-原田病の発症のトリガーとなる原因候補として髄液中のウイルス DNA の存在の有無を多項目ウイルス PCR で検討した。検討した PCR は全て陰性であった。アデノウイルス抗原のチェックも行ったが陰性であった。特定の感染症が原因の可能性は低いと考えられた。

<前眼部 OCT による毛様体の評価>

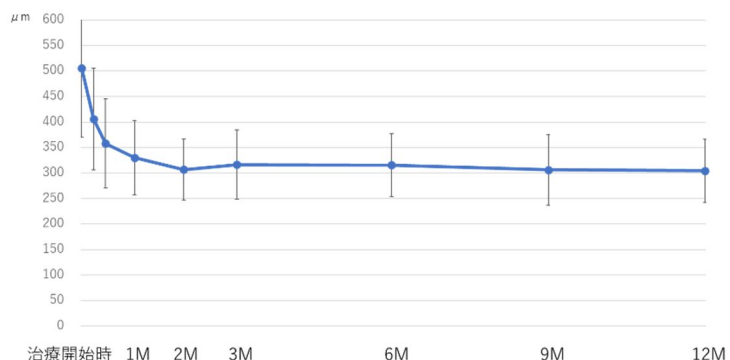
前眼部 Optical Coherence Tomography (OCT)による毛様体の解析では、発症初期には 80~90%と高率に毛様体剥離が認められ診断に有用である。治療により 2 週間以内に消失することが多く、2 ヶ月以内には全例で一旦消失した。再燃時には眼底所見に毛様体剥離が先行することがあり、前眼部 OCT によるフォローで早期に再燃の兆候をとらえることにより治療成績を向上させる可能性がある。



また発症時、毛様体自体も肥厚しており、治療開始時の平均毛様体厚は  $505 \pm 134 \mu\text{m}$  であったのに対し、1 週間後で  $406 \pm 100 \mu\text{m}$ 、2 週間後には  $358 \pm 88 \mu\text{m}$ 、1 ヶ月で  $330 \pm 73 \mu\text{m}$ 、2 ヶ月で  $307 \pm 60 \mu\text{m}$  と有意に減少し、それ以降はプラトーに達することが分かった。中には再燃で毛様体厚が増加する症例もあり、治療評価として有用な所見であることも分かった。

脈絡膜厚との比較では、毛様体厚・脈絡膜厚いずれも 2 ヶ月以降横ばいとなり、治療開始 1 ヶ月と 6 ヶ月、12 ヶ月で毛様体厚と脈絡膜厚に有意な相関を認めた(p 値はそれぞれ 0.037、0.024、0.013)。

平均毛様体厚の推移 (N=60)



<原田病の予後にかかわる因子の検討>

原田病の再燃に関する予後因子について検討し、単変量解析では年齢が高いこと、眼症状自覚から初診までの期間が長いこと、ステロイドパルス療法に後発医薬品を使用したことが有意なリスク因子であり、ロジスティクス回帰分析によりステロイドパルス療法に後発医薬品を使用したことが唯一のリスク因子であることが分かった。高血圧や緑内障などのような慢性疾患では

後発品の使用で血圧や眼圧のコントロールが不良となった場合には先発品の使用に変更し下降すればよいが、原田病のような初期治療が治療経過に重要な疾患においては後発品の使用は避けるべきであると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 青木崇倫, 永田健児, 関山有紀, 中野由起子, 中井浩子, 外園千恵	4. 巻 36
2. 論文標題 非感染症ぶどう膜炎に対するアダリムマブの治療効果と安全性	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 あたらしい眼科	6. 最初と最後の頁 1198-1203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 青木 崇倫, 永田 健児, 関山 有紀, 中井 浩子, 川崎 麻矢, 外園 千恵
2. 発表標題 Vogt-小柳-原田病の治療とその成績の検討
3. 学会等名 フォーサム2019 第53回日本眼炎症学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 永田健児、関山有紀、青木崇倫、川崎麻矢、中井浩子、山本雄士、外園千恵
2. 発表標題 ステロイド後発品の使用がVogt-小柳-原田病の再燃に及ぼす影響
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北野ひかる, 永田健児, 出口英人, 青木崇倫, 山下耀平, 外園千恵
2. 発表標題 ぶどう膜炎診療における新型コロナウイルス感染症の影響
3. 学会等名 第76回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 出口英人、永田健児、北野ひかる、外園千恵
2. 発表標題 フォークト-小柳-原田病における毛様体厚の経時的変化
3. 学会等名 フォーサム2023 第56回日本眼炎症学会
4. 発表年 2023年

〔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

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