

令和 5 年 6 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18391

研究課題名（和文）眼移植片対宿主病(GVHD)ドライアイ国際診断基準の検証と治療法の開発

研究課題名（英文）Development of the new treatment applying microbiome analysis in the graft-versus-host disease related dry eye disease

研究代表者

平塚 諒 (Hiratsuka, Ryo)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：50837440

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）：造血幹細胞移植は血液悪性疾患の根治療法として確立されている。その一方で移植後の合併症である移植片対宿主病(GVHD)は対象となるレシピエントの長期の生活の質や、視覚の質の低下に影響し、時に致死的となり失明をもたらすこともある。世界での診断基準の統一や重症度分類、治療指針の確立が喫緊の課題であった。本課題において、GVHD診断基準項目に含まれていない涙液層破壊時間(BUT)がGVHD診断基準のパラメーターと高い相関があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

造血幹細胞移植後の合併症の一つであるGVHDは宿主のQOLを著しく障害する。眼科領域で最も多い合併症はドライアイである。日本で診断する際、自覚症状とBUTを用いている。他国ではNIHによるGVHDの診断基準を用いて診断することが提案されている。このNIHによるGVHDの診断基準を用いた眼GVHDによるドライアイの診断には長所もあるが、眼科医が診断基準作成に関わっていなかった為、多くの改善点があった。本研究において国際診断基準のパラメーター及び重症度スコアとBUTが強い相関を示した。これにより、今後の眼慢性GVHDによるドライアイの診療と治療法の標準化の一助になる可能性をもたらした。

研究成果の概要（英文）：Hematopoietic stem cell transplantation is an established curative therapy for hematologic malignancies. On the other hand, graft-versus-host disease (GVHD), a post-transplant complication, affects the recipient's long-term quality of life and vision, and can sometimes be fatal, resulting in blindness. The establishment of uniform diagnostic criteria, severity classification, and treatment guidelines has been an urgent issue. In this research, we found that the Tear Film Break Up Time (BUT), which is not included in the GVHD diagnostic criteria items, is highly correlated with the GVHD diagnostic criteria parameters.

研究分野：ドライアイ

キーワード：ドライアイ 涙液層破壊時間 移植片対宿主病 診断基準

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞移植は血液悪性疾患の根治療法として確立されている。その一方で移植後の合併症である移植片対宿主病(GVHD)は対象となるレシピエントの長期の生活の質や、視覚の質の低下に影響し、時に致命的となり失明をもたらすこともある。しかし、現在のところその病態は不明であり、病態解明、診断基準の統一や重症度分類、治療指針の確立が喫緊の課題である。本課題では、現在はまだ統一されたものがない難治性である眼慢性 GVHD によるドライアイの本邦における診療と治療法の標準化をはかり国内外へ発信する。

2. 研究の目的

造血幹細胞移植後の合併症のひとつである GVHD は宿主の QOL を著しく障害する。眼科領域では GVHD による合併症で最も多いのはドライアイである。これまでに、眼 GVHD の国際診断基準が提唱されている。日本でドライアイを診断する際、自覚症状と涙液層破壊時間を用いている。一方、近年欧米などの他国では National Institute of Health (NIH) による GVHD の診断基準を用いて眼 GVHD によるドライアイ診断することが提案されている。しかしながら、この NIH による GVHD の診断基準を用いた眼 GVHD によるドライアイの診断には長所もあるが、眼科医が診断基準作成の詳細にかかわっていなかったため多くの改善点があると考えられた。いまだ眼科医の観点からはさらなる改善点がある眼慢性 GVHD としてのドライアイの重症化の評価と診断の国内外での統一基準が望まれるため、作成することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

本課題では、慶應義塾大学病院で造血幹細胞移植施行した後、慢性移植片対宿主病 (GVHD) によるドライアイを新規に発症し、眼科で診断・治療を受けた患者と移植後ドライアイがない患者をコントロールとし GVHD による全身合併症、眼症状、治療内容等の情報をレトロスペクティブに調査した。現在はまだ統一されたものがない難治性である眼慢性 GVHD によるドライアイの本邦における診療と治療法の標準化の検討を開始し国内外へ発信した。

応募者が所属する研究室より開始された国際眼 GVHD 会議で共通の認識が得られた検討項目、診断基準を使用して、新しい国際眼 GVHD の診断基準の妥当性を評価し、国際眼診断基準と本邦で確立されているドライアイの診断基準との相関性を検討した。病態解明のため確立された GVHD マウスモデル (Zhang Y Immunol. 2002) を用い、マウス骨髄移植後 GVHD が発症する 4 週後に涙腺、結膜、血清にて GVHD にコントロールと比較して特異的に上昇している蛋白を免疫組織学的検討、ELISA を用いて探索し、臨床での GVHD によるドライアイの重症度判定のバイオマーカーの探索をした。

4. 研究成果

2013 年に提案された国際眼 GVHD 診断基準 (Ogawa Y, et al. Sci Rep, 2013) について日本ドラ

ドライアイ診断基準 2016、NIH 作成眼 GVHD 診断基準 2014 との比較検討を行い、感度、特異度、正確度の検証を行った。検討項目としては、自覚症状、角膜染色スコア、シルマー値、結膜充血の 4 項目を抽出し、国際眼 GVHD 診断基準に検討項目として抜けている涙液層破壊時間との比較検討を行った。予備的にすでに、2014 年から 2018 年までに当院ドライアイ外来を受診した造血幹細胞移植症例 48 例、48 眼を検証し、国際診断基準スコアと日本の診断基準の主要項である涙液層破壊時間(BUT)との相関を検討した結果、両者には有意な逆相関を認め、(p<0.001, R=0.746)国際診断基準と本邦診断基準双方に相関があることを示し国際ジャーナルに報告した。

眼慢性 GVHD 国際診断基準の妥当性の検討および NIH 国際眼 GVHD スコアおよび日本のドライアイ診断基準との比較検討に関する英文論文の投稿、掲載を行った。その中で、国際診断基準の診断項目に含まれていない BUT が GVHD ドライアイの診断や治療に関して有用である可能性が高いことを報告することができた ([Hiratsuka R](#), et al. A single institute validation study comparing the international chronic ocular graft-versus-host disease consensus group diagnostic criteria with clinical parameters. *Ocul Surf.* 2022 Apr;24:12-14. doi: 10.1016/j.jtos.2021.12.009.). 慢性眼 GVHD によるドライアイの国内外の多施設実態調査において眼 GVHD の他の眼合併症、全身合併症との関連、眼 GVHD の発症リスクファクターの検討全身 GVHD との関連眼 GVHD のみの症例の検討、GVHD の発症臓器の発症の経時的順位の検討等上記項目について多施設調査を行うことで診断・治療に関するエビデンスを構築した。慢性眼 GVHD によるドライアイの重症度分類作成と NIH 国際眼 GVHD スコアとの比較検討評価が終了した国際診断基準スコアを用いて臨床像と照らし合わせ、重症度分類を検討した(Ogawa Y, -- , [Hiratsuka R](#), Tsubota K. *Ocul Surf.* 2022 Oct;26:200-208. doi: 10.1016/j.jtos.2022.09.002).

基礎研究では慢性炎症性疾患に有効性が報告されている抗 IL-18 抗体に注目し、インフラマゾーム関連分子について眼 GVHD のバイオマーカーの検索を開始した。病態解明のため確立された GVHD マウスモデル (Zhang L, J Immunol. 2002) を用い、マウス骨髄移植後 GVHD が発症する 4 週後に涙腺、結膜、血清にて GVHD にコントロールと比較して特異的に上昇している蛋白を同定した。インフラマゾームに関連する自然免疫系の分子の発現が眼 GVHD の涙液および角膜で上昇していることを見出した。またマウス GVHD 涙腺の間質にはコントロールに比して細胞の断片や残骸が散在していることが電子顕微鏡で確認され、インフラマゾームのトリガーとなる damage associated molecular pattern (DAMP) としての役割を果たしている可能性が考えられた。GVHD マウスモデルではドライアイの発症時に血清中において IL-18 が上昇していることを再現性をもって見出した。

IL-18 の上昇に伴い、インフラマゾーム分子である NLRP3, カスパーゼ 1, IL-1 β の上昇の有無を確立された GVHD マウスモデルの移植後 4 週時における涙腺と血清を用いてコントロールと比較検討し IL-18 とともにカスパーゼ 1, IL-1 β が上昇していることを確認した。

慢性 GVHD の指標として下痢、体重、皮膚の湿疹などの表現型、涙液量、眼表面フルオレセインスコア、BUT、組織、血清における線維化と炎症反応については再現性を確認し繰り返し、安定

した結果が得られマウスモデル作成のための骨髄移植技術と評価系の再現性と正確性を確立した。今後、眼慢性 GVHD によるドライアイの本邦における診療と治療法の標準化に役立てていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hiratsuka Ryo, Shimizu Eisuke, Yamane Mio, Yazu Hiroyuki, Sato Shinri, Fukui Masaki, Mukai Shin, Uchino Miki, Kanoi Mizuka, Tatematsu Yukako, Saijo Yumiko, Negishi Kazuno, Tsubota Kazuo, Ogawa Yoko	4. 巻 24
2. 論文標題 A single institute validation study comparing the international chronic ocular graft-versus-host disease consensus group diagnostic criteria with clinical parameters	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Ocular Surface	6. 最初と最後の頁 12～14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtos.2021.12.009	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 -

1. 著者名 平塚諒、立松由佳子、林勇海、内野美樹、鴨居瑞加、清水映輔、佐藤真理、金子祐子、根岸一乃、坪田一男、小川葉子	4. 巻 39
2. 論文標題 涙腺リンパ増殖性病変の長期経過後にIgG4関連眼疾患の診断に至った1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 あたらしい眼科	6. 最初と最後の頁 -
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa Y, Dana R, Kim S, Jain S, Rosenblatt MI, Perez VL, Clayton JA, Alves M, Rocha EM, Amparo F, Seo KY, Wang Y, Shen J, Oh JY, Vanathi M, Nair S, Na KS, Riemens A, Sippel K, Soifer M, Wang S, Trindade M, Kim MK, Yoon CH, Yagi R, Hiratsuka R, Ogawa M, Shimizu E, Sato Y, Pflugfelder S, Tsubota K.	4. 巻 26
2. 論文標題 Multicenter prospective validation study for international chronic ocular graft-versus-host disease consensus diagnostic criteria	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Ocular Surface	6. 最初と最後の頁 200～208
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jtos.2022.09.002	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0件

〔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
---------	---------