

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09682

研究課題名(和文) 血清microRNAの視点からみた特発性ぶどう膜炎の病態理解

研究課題名(英文) Understanding the pathogenesis of idiopathic (unclassified) uveitis through serum microRNA analysis

研究代表者

慶野 博 (Keino, Hiroshi)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：90328211

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：特発性ぶどう膜炎と診断された症例の中にサルコイドーシス国際診断基準の眼所見(7項目中3項目以上)を満たす症例(眼サルコイドーシス疑い群)が存在することが報告されている。我々は血清中のmicroRNA(miRNA)に着目し、健康人、眼サルコイドーシス群、眼サルコイドーシス疑い群でmiRNAの発現プロファイルを検討した。クラスター解析では健康人と疾患群は異なるクラスターに分類されたが、眼サルコイドーシス群、眼サルコイドーシス疑い群のmiRNAの発現パターンは近似していた。眼サルコイドーシスの眼所見を呈する特発性ぶどう膜炎において眼サルコイドーシスと共通した分子機構が作用していると推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで特発性ぶどう膜炎を対象とした報告は少なく、その臨床像は不明な点が多い。本課題では特発性ぶどう膜炎の中でも眼サルコイドーシスに近似した臨床像を呈する患者群(眼サルコイドーシス疑い群)が存在すること、近年疾患バイオマーカーとして注目されているmicroRNAに注目し血清中の発現プロファイルを眼サルコイドーシス群と眼サルコイドーシス疑い群で機械学習の手法を用いてプロファイルを比較したところ両群間で近似した発現パターンを示すことを報告した。本課題で得られた結果を基に特発性ぶどう膜炎の疾患分類と病態理解が進展することで、視機能予後の改善に繋がることが期待される。

研究成果の概要(英文)：There are some patients showing ocular clinical sings for probable ocular sarcoidosis proposed by the International Workshop on Ocular Sarcoidosis (IWOS) (3 or more out of 7 ocular sings), in whom ancillary testing did not meet the IWOS criteria. Clinical features including visual outcomes were similar between patients with ocular sarcoidosis (OS) and patients with idiopathic uveitis with ocular manifestations of sarcoidosis (suspected OS). We compared the miRNA profile in serum from healthy subjects (HS), patients with ocular sarcoidosis, and patients with suspected ocular sarcoidosis. Clustering analysis showed that serum miRNA profiles of diagnosed ocular sarcoidosis and suspected ocular sarcoidosis were both clearly distinguishable from HS. However, comparative analysis of the miRNA profiles showed highly similar patterns between diagnosed OS and suspected OS. These findings suggest that both groups may share a similar underlying molecular pathology regarding serum miRNA.

研究分野：眼科学

キーワード：ぶどう膜炎

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、網羅的 PCR などの新しい検査機器の導入により特発性(分類不能)ぶどう膜炎の頻度は減少傾向を示しているものの、2009 年の全国疫学調査では全体の 33% が特発性ぶどう膜炎と診断されている。これまでサルコイドーシスや原田病など clinical entity が明確な疾患における臨床像や視力予後についての報告は多数あるものの特発性ぶどう膜炎を対象とした報告は極めて少なく、臨床経過、視力予後、眼合併症に関する詳細は不明である。

日常診療の中で、眼所見はベージェット病ぶどう膜炎に合致していても全身症状が伴わずに特発性ぶどう膜炎と診断される症例、また眼所見はサルコイドーシスに合致しているものの、全身検査所見が揃わないためサルコイドーシスの診断に至らず、特発性ぶどう膜炎に分類される症例は少なくない。既存の診断基準に基づく分類としては分類不能であっても眼所見の特徴を明らかにし、それに基づいて新たな疾患単位としてグループ分類し、そのグループに特徴的な新たなバイオマーカーを同定することは新しい疾患分類、病態理解、治療標的分子の確立へと繋がる可能性がある。

近年、蛋白質の翻訳に関与しない non-coding RNA である microRNA が標的 mRNA の発現を制御することで細胞の分化・増殖など様々な生体反応に加えて、最近では免疫反応などの微調整因子として機能することが明らかとなってきた。microRNA は細胞内だけでなく分泌型 microRNA として血液中にも存在し、悪性腫瘍の早期診断・予後予測のバイオマーカーとしての有用性が報告されている。

### 2. 研究の目的

本研究課題では 1) 特発性ぶどう膜炎の臨床像(視力予後、眼合併症の発生頻度、治療法など)の検討、2) 我が国の代表的な肉芽腫性ぶどう膜炎であるサルコイドーシス患者と特発性肉芽腫性ぶどう膜炎患者の臨床像の違いについての比較検討、3) マイクロアレイの手法を用いて我が国の代表的な肉芽腫性ぶどう膜炎であるサルコイドーシス患者の血清中の microRNA と特発性肉芽腫性ぶどう膜炎患者血清中の microRNA の発現プロファイルの類似点、相違点を比較検討、さらに血清中 microRNA の発現結果を基に公共データベースを用いた pathway 解析を行い、眼サルコイドーシスと特発性肉芽腫性ぶどう膜炎の血清レベルでの分子病態を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### 1) 特発性ぶどう膜炎の臨床像(視力予後、眼合併症の発生頻度、治療法など)の検討

当施設で特発性ぶどう膜炎と診断された症例を対象に臨床経過、視力予後、眼合併症、治療内容について後ろ向きに解析、また視力予後良好例と不良例に分類し、多変量解析を用いて視力予後不良因子について検討した。

#### 2) 眼サルコイドーシス群と特発性肉芽腫性ぶどう膜炎(眼サルコイドーシス疑い群)の臨床像の比較

眼サルコイドーシス群と眼サルコイドーシス疑い群(サルコイドーシス国際診断基準の眼所見 7 項目中、少なくとも 3 項目を満たす症例)の臨床像(年齢、男女比、眼合併症の発生頻度、視力予後、治療法)を診療録を基に後ろ向きに検討、比較した。

#### 3) 眼サルコイドーシス患者の血清中の microRNA と特発性肉芽腫性ぶどう膜炎患者血清中の microRNA の発現プロファイルの類似点、相違点の比較検討

眼サルコイドーシスと診断された症例、および眼サルコイドーシスの国際診断基準で定義された眼所見 7 項目中、少なくとも 3 項目を満たすものの眼サルコイドーシスの診断基準を満たさなかった特発性ぶどう膜炎の症例で全身の免疫抑制療法が未施行の患者から血清を採取、microRNA easy mini-kit(Qiagen社)を用いて total, および small RNA を抽出、Quality check を行った後、ThermoFisher 社の GeneChip miRNA 4.0 Assay を用いて microRNA の発現を網羅的に測定した。上記で得た特発性肉芽腫性ぶどう膜炎およびサルコイドーシス患者血清で共通して発現が上昇・低下した microRNA、また各グループでのみ発現が上昇・低下した microRNA をベン図を用いて分類、さらに miRNA の発現データを基に KEGG を用いて pathway 解析を行った。

### 4. 研究成果

#### 1) 特発性ぶどう膜炎の臨床像(視力予後、眼合併症の発生頻度、治療法など)の検討

2011年から2018年に当院にて特発性ぶどう膜炎と診断された521例について検討したところ、初診時平均年齢は54歳、炎症部位の分類では前部ぶどう膜炎が43%で最も多く、次いで汎ぶどう膜炎が37%と多い傾向にあった。受診1年後の視力が1.0以上は全体の62%であり特発性ぶどう膜炎の短期的予後は比較的良好と考えられた。視力予後不良因子として初診時視力不良例、初診時の網膜外層障害が予後不良因子として抽出された。

## 2) 眼サルコイドーシス群と眼サルコイドーシス疑い群（サルコイドーシス国際診断基準の眼所見7項目中、少なくとも3項目を満たす症例）の臨床像の比較

眼サルコイドーシス群と眼サルコイドーシス疑い群（サルコイドーシス国際診断基準の眼所見7項目中、少なくとも3項目を満たす症例）の臨床像（年齢、男女比、眼合併症の発生頻度、視力予後、治療法）を比較したところ眼サルコイドーシス群(107例)と眼サルコイドーシス疑い群(37例)で、上記の検討項目で有意差はみられず、経過中の視力も両群ともに概ね良好であった。

## 3) 眼サルコイドーシス患者の血清中のmicroRNAと特発性肉芽腫性ぶどう膜炎患者血清中のmicroRNAの発現プロファイルの類似点、相違点の比較検

両群の血清を採取しマイクロアレイ解析にてmiRNAの発現プロファイルについてクラスター解析を施行したところ、眼サルコイドーシス群と眼サルコイドーシス疑い群は健常人と比較して異なった発現パターンを示しており、さらに眼サルコイドーシス群と眼サルコイドーシス疑い群では近似した発現プロファイルを呈することを確認した。Pathway解析でもwingless/integrated (WNT) signaling pathwayやtransforming growth factor (TGF)-beta signaling pathwayなどが共通して検出された。これらの結果から、特発性ぶどう膜炎の中でも眼サルコイドーシスで観察される眼所見を呈する症例では血清レベルにおいて眼サルコイドーシスと近似したepigeneticな変化を有していることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Nakayama M, Okada AA, Hayashi I, Keino H	4. 巻 261
2. 論文標題 COVID-19 vaccination-related intraocular inflammation in Japanese patients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 897-899
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-022-05866-5.	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 Nakayama M, Okada AA, Hayashi I, Ando Y, Watanabe T, Keino H	4. 巻 31
2. 論文標題 A COVID-19 Risk Reduction Strategy for the Treatment of Acute Vogt-Koyanagi-Harada Disease Utilizing the Antiviral Potential of Cyclosporine	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Ocul Immunol Inflamm.	6. 最初と最後の頁 462-467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09273948.2022.2028293.	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 Yasaka Y, Hasegawa E, Keino H, Usui Y, Maruyama K, Yamamoto Y, Kaburaki T, Iwata D, Takeuchi M, Kusahara S, Takase H, Nagata K, Yanai R, Kaneko Y, Iwahashi C, Fukushima A, Ohguro N, Sonoda KH	4. 巻 67
2. 論文標題 A multicenter study of ocular inflammation after COVID-19 vaccination	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 14-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-022-00962-9.	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 Hayashi I, Keino H, Inoue M, Okada AA	4. 巻 6
2. 論文標題 Compromised blood flow of the optic nerve head in acute retinal necrosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Exp Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 685-687
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ceo.14114.	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 Nakayama M, Keino H, Watanabe T, Okada AA.	4. 巻 6
2. 論文標題 Prognostic value of subfoveal choroidal thickness in new-onset acute Vogt-Koyanagi-Harada disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clin Exp Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 678-680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ceo.14088.	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 Keino H, Aman T, Furuya R, Nakayama M, Okada AA, Sunayama W, Hatanaka Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Automated Quantitative Analysis of Anterior Segment Inflammation Using Swept-Source Anterior Segment Optical Coherence Tomography: A Pilot Study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 2703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/diagnostics12112703	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 Nagahori K, Keino H, Nakayama M, Watanabe T, Ando Y, Hayashi I, Abe S, Okada AA	4. 巻 260
2. 論文標題 Clinical features and visual outcomes of ocular sarcoidosis at a tertiary referral center in Tokyo.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 3357-3363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-022-05701-x.	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 Saito S, Keino H, Takasaki I, Abe S, Kohno H, Ichihara K, Hayashi I, Nakayama M, Tsuboshita Y, Miyoshi S, Okamoto S, Okada AA	4. 巻 23
2. 論文標題 Comparative Analysis of Serum microRNA in Diagnosed Ocular Sarcoidosis versus Idiopathic Uveitis with Ocular Manifestations of Sarcoidosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 10749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231810749.	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 Sato Y, Saito S, Nakayama M, Sugita S, Kudo A, Keino H	4. 巻 23
2. 論文標題 Genetic Ablation of Nrf2 Exacerbates Neuroinflammation in Ocular Autoimmunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 11715
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231911715.	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 Keino H, Wakitani T, Sunayama W, Hatanaka Y	4. 巻 12
2. 論文標題 Quantitative Analysis of Retinal Vascular Leakage in Retinal Vasculitis Using Machine Learning	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Appl. Sci.	6. 最初と最後の頁 12751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/app122412751	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 Sato Y, Keino H, Nakayama M, Kano M, Okada AA	4. 巻 29
2. 論文標題 Effect of In Vivo Expansion of Regulatory T Cells with IL-2/anti-IL-2 Antibody Complex Plus Rapamycin on Experimental Autoimmune Uveoretinitis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ocul Immunol Inflamm.	6. 最初と最後の頁 1520-1529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09273948.2020.1757119.	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 Takase H, Goto H, Namba K, Mizuki N, Okada AA, Ohguro N, Sonoda KH, Tomita M, Keino H, Kezuka T, Kubono R, Mizuuchi K, Shibuya E, Takahashi H, Yanai R, Mochizuki M (Japan ARN Study Group)	4. 巻 30
2. 論文標題 Clinical Characteristics, Management, and Factors Associated with Poor Visual Prognosis of Acute Retinal Necrosis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ocul Immunol Inflamm.	6. 最初と最後の頁 :48-53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09273948.2020.1789179.	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 Keino H, Watanabe T, Nakayama M, Komagata Y, Fukuoka K, Okada AA	4. 巻 105
2. 論文標題 Long-term efficacy of early infliximab-induced remission for refractory uveoretinitis associated with Behcet's disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Br J Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 1525-1533
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/bjophthalmol-2020-316892.	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 Nakayama M, Okada AA, Hayashi I, Ando Y, Watanabe T, Keino H	4. 巻 -
2. 論文標題 A COVID-19 Risk Reduction Strategy for the Treatment of Acute Vogt-Koyanagi-Harada Disease Utilizing the Antiviral Potential of Cyclosporine.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ocul Immunol Inflamm.	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) 10.1080/09273948.2022.2028293.	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 Ando Y, Keino H, Inoue M, Hirota K, Takahashi H, Sano K, Koto T, Sato T1, Takeuchi M1, Hirakata A	4. 巻 -
2. 論文標題 Circulating Vitreous microRNA as Possible Biomarker in High Myopic Eyes with Macular Hole.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	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) 10.3390/ijms23073647.	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10件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 中山真紀子, 慶野博, 林勇海, 安藤良将, 岡田アナベルあやめ
2. 発表標題 COVID-19パンデミックにおける急性期Vogt-小柳-原田病の治療選択
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会
4. 発表年 2022年~2023年

1. 発表者名 近藤峰生, 齋藤航, 石田晋, 國吉一樹, 上野真治, 林孝彰, 中野匡, 早川卓浩, 角田和繁, 慶野博, 岡田アナベルあやめ, 中村考介, 秋山英雄
2. 発表標題 MEWDSの日本人患者の特徴 全身ステロイドの投与が最終視力に及ぼす影響.
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 竹内大, 白井嘉彦, 南場研一, 慶野博, 竹内正樹, 高瀬博, 鴨居功樹, 長谷敬太郎, 伊東崇子, 中井慶, 丸山和一, 小林恵里, 堀純子, 真下永, 佐藤智人, 大黒伸行, 岡田アナベルあやめ, 園田康平, 後藤浩, 水木信久
2. 発表標題 ベージェット病ぶどう膜炎に対するインフリキシマブ治療の5年以上の検討:多施設研究
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 岡田アナベルあやめ, 望月學, 大野重昭, 慶野博, 高瀬博, 南場研一, 渡邊交世, 鴨居功樹
2. 発表標題 SUNワーキンググループによる25のぶどう膜炎疾患の分類基準.
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 5. 慶野博
2. 発表標題 眼炎症性疾患における炎症活動性の定量的評価法の確立と新たな治療戦略を目指して
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 林 勇海, 慶野博, 中山真紀子, 安藤良将, 渡邊交世, 岡田アナベルあやめ
2. 発表標題 杏林アイセンターにおける特発性ぶどう膜炎患者の臨床像.
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 慶野博
2. 発表標題 Non-coding RNAの視点からみたぶどう膜炎の病態理解.
3. 学会等名 第54回日本眼炎症学会.(招待講演)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 慶野博, 齋藤翔子, 佐藤康彦, 高崎一朗, 渡邊交世, 岡田アナベルあやめ
2. 発表標題 実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎(EAU)における血清中microRNA解析
3. 学会等名 第49回日本臨床免疫学会総会.
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Keino H
2. 発表標題 Management considerations in viral anterior uveitis.
3. 学会等名 International Ocular Inflammatory Society.(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 Keino H
2. 発表標題 The changes of serum microRNA expression profile during the development of experimental autoimmune uveoretinitis.
3. 学会等名 International Ocular Inflammatory Society. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年～2022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