

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：32645
研究種目：若手研究（B）
研究期間：2011～2012
課題番号：23792007
研究課題名（和文） 難治性ぶどう膜網膜炎の発症および再発に關与する 補助シグナル分子の検討
研究課題名（英文） Association of co-stimulatory molecules with onset and recurrence of refractory uveoretinitis
研究代表者 臼井 嘉彦（USUI YOSHIHIKO） 東京医科大学・医学部・助教 研究者番号：50408142

研究成果の概要（和文）：各種ぶどう膜炎の CD4 T 細胞における補助シグナル分子の発現を比較検討したところ、CD4T 細胞上の ICOS、OX40、4-1BB が有意に上昇していた。また、ベーチェット病については抗 TNF- α 抗体投与前後、サルコイドーシスおよび VKH についてステロイド薬投与前後における補助シグナル分子の発現を比較検討したところ、治療により発現は低下した。分離した CD4 陽性 T 細胞と CD14 陽性細胞を Con A による刺激後、活動期および寛解期に発現の高かった ICOS と OX40 について阻害抗体により Th1 サイトカインや Th17 サイトカインが低下していた。

研究成果の概要（英文）：ICOS, OX40, and 4-1BB expression on CD4 T cells in various uveitis was significant higher than that in healthy individuals. And, the expression of costimulatory molecules was significantly lower than that in Behcet disease, sarcoidosis, and VKH disease before and after anti-TNF α mAb treatment and systemic corticosteroid therapy, respectively. After the isolated CD4 T cells and CD14 cells were stimulated with Con A, the effects of ICOS and OX40 that were overexpressed during active and remission phases on T cell proliferation was examined using inhibitory antibodies. The results showed that Th1 cytokines and Th17 cytokines were reduced.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：ぶどう膜炎、補助シグナル、サイトカイン、ケモカイン、CD4 T 細胞、抗原提示細胞、網膜色素上皮細胞

1. 研究開始当初の背景
ベーチェット病、サルコイドーシス、遷延型 Vogt-小柳-原田病に代表される難治性内因

性ぶどう膜網膜炎は眼炎症発作を繰り返すため現在でも失明原因として大きな位置を占めている。合併する全身疾患やぶどう膜炎

所見は異なるが、眼炎症を繰り返す病態は共通であり、発症にはベーチェット病では連鎖球菌、サルコイドーシスではアクネ菌や抗酸菌、Vogt-小柳-原田病では tyrosinase が自己抗原となって発症する可能性が示唆されている。さらにその発症機構に活性化 CD4 T 細胞が中心的な役割を果たし、CD4 T 細胞から産生される IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 を代表とする Th1 サイトカインと IL-17、IL-23 を代表とする Th17 サイトカインがぶどう膜炎の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられている。このようなヒト難治性ぶどう膜炎の動物モデルとして、実験的自己免疫性ぶどう膜炎 (experimental autoimmune uveoretinitis; EAU) があり、interphotoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) や S 抗原などの網膜視細胞層に局在する蛋白質が抗原となり発症する自己免疫疾患である。その発症にはヒトぶどう膜炎と同様に CD4 T 細胞が重要な役割を果たし、T helper (Th)1 および Th17 優位な疾患モデルである。免疫反応の中心的な役割を果たす CD4 T 細胞は、抗原刺激のみならず、補助シグナル分子と呼ばれる細胞表面機能分子の働きによって、その活性化・不活性化が制御されている。従って、これらの分子の過剰な反応や欠失は免疫異常を招き、難治性内因性ぶどう膜炎の発症に関与していると考えられている。近年、申請者らは、眼局所における補助シグナル分子の役割を明らかにし、角膜移植モデルや網膜芽細胞腫、ぶどう膜炎悪性黒色腫など種々の眼免疫に関わる補助シグナル分子の生理的・病理的役割を明らかにしてきた。ぶどう膜炎においては、抗原提示細胞上に発現する B7RP-1 (B7 related protein-1) 分子と活性化補助シグナル分子である ICOS (inducible costimulator) の治療効果や補助シグナル分子を制御した樹状細胞を投与することにより EAU の治療効果があることを明らかにしてきた。さらに、ベーチェット病患者の CD4 T 細胞に ICOS が高発現し、ICOS がベーチェット病患者の Th1 細胞および Th17 細胞のサイトカイン産生に関与し、活動性の指標およびバイオマーカーになり得ることを見出した。逆に、ベーチェット病の寛解期では CD4 T 細胞上の抑制性補助シグナル分子が活性化補助シグナル分子より発現し、抑制性サイトカインを産生することで眼炎症が終息していると推測されるデータを我々は得ている。

2. 研究の目的

以上の学術的背景から、免疫反応の中心的役割を果たす CD4 T 細胞と眼局所において発現している補助シグナル分子およびそれに伴うサイトカイン産生は、難治性内因性ぶどう膜炎の病態把握や治療効果判定に有用なバイオマーカーになり得ると考えられる。しかしながら、病態を規定していると考えられている CD4 T 細胞上に発現する補助シグナル分子がぶどう膜炎の発症や再発、寛解時にいかなる動態を示し、それが治療による病態改善に伴いどのように変化するかは明らかではない。また活動期ベーチェット病患者ごとに CD4 T 細胞上の ICOS の発現やサイトカイン産生量に個人差があるため、臨床所見と関連のある補助シグナル分子の遺伝子多型が関与している可能性が示唆される。従って、本研究では、これまでぶどう膜炎の関与が明らかにされていない補助シグナル分子の関与を明らかにし、臨床における病態把握や治療効果を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

各難治性ぶどう膜炎患者から末梢血および手術時に眼内液を採取し、補助シグナル分子とそのリガンドの発現および遺伝子変異 (SNP) の検索、液性因子の測定、in vitro における機能を検討する。臨床因子との関連を多変量解析する。補助シグナル分子やそれに伴った液性因子をバイオマーカーとして確立するために、異なる病期におけるマウス EAU において補助シグナル分子の臨床的意義を解明する。

4. 研究成果

ベーチェット病、サルコイドーシス、Vogt-Koyanagi-Harada disease の CD4 T 細胞における補助シグナル分子の発現を比較検討したところ、CD4 T 細胞上の ICOS、OX40、4-1BB が有意に健常人と比較して上昇していた。また、ベーチェット病については抗 TNF- α 抗体投与前後、サルコイドーシスおよび Vogt-小柳-原田病について副腎皮質ステロイド薬の全身投与前後における補助シグナル分子の発現を比較検討したところ、治療により発現は低下していた。分離した CD4 陽性 T 細胞と CD14 陽性細胞を Con A による刺激後、活動期および寛解期に発現の高かった ICOS と OX40 について阻害する抗体による T 細胞増殖反応を検討した結果、IFN- γ などの Th1 サイトカインや IL-17 などの Th17 サイトカインが低下していた。さらに、このような液性因子を測定している中で、ぶどう膜炎との鑑別が難しい眼内リンパ腫において Th1 細胞分化に関わる IFN- γ 、T 細胞の遊走に関連した IP-10、炎症に関わる IL-6 など多くの液性因子が眼内リンパ腫と比較して上昇していたため、眼内リンパ腫との鑑別に有用なマ

カーであることを発見した。また、マウス網膜色素上皮細胞に抑制性補助シグナル分子が発現し、成熟樹状細胞の活性化を抑制する可能性も見出した。

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 21 件)

1. Sugita S, Kawazoe Y, Imai A, Usui Y, Iwakura Y, Isoda K, Ito M, Mochizuki M. Mature dendritic cell suppression by IL-1 receptor antagonist on retinal pigment epithelium cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 54(5): 3240-3249, 2013. (査読あり)
2. 臼井嘉彦 学会トピックス第 46 回日本眼科学会眼内リンパ腫とぶどう膜炎患者の硝子体液中の液性因子の比較. 日本眼科学会雑誌 116: 1097, 2012. (査読なし)
3. Usui Y, Wakabayashi Y, Okunuki Y, Kimura K, Tajima K, Matsuda R, Ueda S, Ma J, Nagai T, Mori H, Kezuka T, Nagao T, Goto H. Immune mediators in vitreous fluids from patients with vitreoretinal B cell lymphoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 53: 5395-5402, 2012. (査読あり)
Doi : 10.1167/iovs.11-8719
4. 臼井嘉彦 急性網膜壊死の所見とその治療. 日本の眼科 83(1): 37-38, 2012. (査読なし)
5. 臼井嘉彦 Behçet 病ぶどう膜炎における CD4 T 細胞上の補助シグナル分子 ICOS の発現と機能、ならびに治療への応用日本眼科学会雑誌 116: 1037-1045, 2012. (査読あり)
6. Ma J, Usui Y, Kezuka T, Okunuki Y, Zhang L, An X, Mizota A, Goto H. Costimulatory molecule expression on human uveal melanoma cells: Functional analysis of CD40 and B7-H1. Exp Eye Res. 96(1): 98-106, 2012. (査読あり)
7. 臼井嘉彦, 毛塚剛司, 後藤浩. 眼炎症性疾患に対する取り組みと最近のトピック. 東京医科大学雑誌. 70(1): 133-136, 2012. (査読あり)
8. 森地陽子, 臼井嘉彦, 奥貫陽子, 坂井潤一, 後藤浩 発症から 3 年および 21 年後に僚眼に再発した急性網膜壊死の 1 例 あたらしい眼科 28(12): 1769-1772, 2011. (査読あり)
9. Ma J, Usui Y, Takeda K, Harada N, Yagita H, Okumura K, Akiba H. Tim-1 signaling in B cells regulates antibody production. Biochem Biophys Res Commun 406: 223-228, 2011. (査読あり)
10. 服部貴明, 臼井嘉彦 眼免疫疾患に対する樹状細胞療法の可能性 あたらしい眼科 28(11) 1585-6, 2011. (査読なし)
11. Kawamoto T, Abe Y, Ito J, Makino F, Kojima Y, Usui Y, Ma J, Morimoto S, Yagita H, Okumura K, Takasaki Y, Akiba H. Anti-Tim-2 mAb exacerbates collagen-induced arthritis by stimulating B cells. Arthritis Res Ther. 13: R47, 2011. (査読あり)
12. Okunuki Y, Usui Y, Kezuka T, Takeuchi M, Goto H. Four Cases of Delayed Onset Bilateral Acute Retinal Necrosis (ARN) in which Causative Virus in Both Eyes were Identified: an analysis of 108 cases of ARN. Br J Ophthalmol. 95: 1251-4, 2011. (査読あり)
13. Okunuki Y, Usui Y, Katai N, Kezuka T, Takeuchi M, Goto H, Wakabayashi Y. Relation of intraocular concentrations of inflammatory factors and improvement of macular edema after vitrectomy in branch retinal vein occlusion. Am J Ophthalmol 151: 610-616, 2011. (査読あり)
14. Ito J, Harada N, Nagashima O, Makino F, Usui Y, Yagita H, Okumura K, Dorscheid D, Atsuta R, Akiba H, Takahashi K. Wound-induced TGF- β 1 and TGF- β 2 enhance airway epithelial repair via HB-EGF and TGF- α . Biochem Biophys Res Commun. 412: 109-14, 2011. (査読あり)
15. 松崎祥子, 臼井嘉彦, 後藤浩: 組織学的に木質結膜炎と診断された 1 例. 眼科 53:113-116, 2011. (査読あり)
16. 中原亜新, 鈴木潤, 臼井嘉彦, 村松隆次, 後藤浩: 強膜生検にて診断された感染性強膜炎. 眼科 53: 259-262, 2011. (査読あり)
17. 長井瞳, 後藤浩, 木村圭介, 臼井嘉彦: 脈絡膜腫瘍との鑑別を要した後部強膜炎の 1 例 眼科 53: 465-470, 2011. (査読あり)
18. 臼井嘉彦, 竹内大, 山川直之, 竹内礼, 毛塚剛司, 馬娟, 松田隆作, 奥貫陽子, 秋葉久弥, 後藤浩 Behçet 病に伴うぶどう膜炎患者末梢血における CD4 陽性 T 細胞上の inducible costimulator (ICOS) の発現と機能: 新たな疾患活動性マーカーになりうるか? 日本眼科学会雑誌 115(4): 401-2, 2011. (査読あり)
19. 臼井嘉彦 ぶどう膜炎における基礎研究の進歩—病態解析から新規治療法の開発へ— あたらしい眼科 28(4): 495-499,

2011. (査読なし)
20. 臼井嘉彦 眼免疫疾患における補助シグナル分子の免疫制御 日本眼炎症学会雑誌 13:12-16, 2011. (査読あり)
 21. 伊丹彩子、臼井嘉彦、森秀樹、後藤浩 強膜炎様症状を呈したため診断に苦慮した単純ヘルペスウイルス 2 型による急性網膜壊死の 1 例 眼科 53(5), 719-724, 2011. (査読あり)

[学会発表] (計 23 件)

①臼井嘉彦他 転移性内因性眼内炎 12 例の臨床的検討. 第 66 回日本臨床眼科学会 2012. 10. 25-28 京都.

1. 奥貫陽子、臼井嘉彦他 Vogt-小柳-原田病の病型別にみた臨床像と予後の検討. 第 66 回日本臨床眼科学会 2012. 10. 25-28 京都.
2. 臼井嘉彦他 眼内リンパ腫とぶどう膜炎患者の硝子体液中液性因子の比較. 第 46 回日本眼炎症学会 2012. 7. 14-16, 横浜
3. Kezuka T, Usui Y, et al. Detection of toll like receptors in Behcets disease with uveitis following infliximab. 15th International Conference on Behcet's disease. Yokohama. July 13-15, 2012.
4. Usui Y, et al. Expression and function inducible costimulator on peripheral blood CD4 T cells in patients with ocular Behcets disease: a new activity marker? 15th International Conference on Behcet's disease. Yokohama. July 13-15, 2012.
5. Usui Y, et al. Immune mediators in vitreous fluids from patients with vitreoretinal B cell lymphoma. ARVO Fort Lauderdale, Florida, May6-10, 2012.
6. 奥貫陽子、臼井嘉彦他 Vogt-小柳-原田病の発症時年齢および性別と臨床像に関する検討. 第 116 回日本眼科学会総会 2012. 4. 5-8 東京
7. 臼井嘉彦他 ぶどう膜悪性黒色腫における免疫補助シグナル分子の発現と抗腫瘍免疫応答における意義. 第 116 回日本眼科学会総会 2012. 4. 5-8 東京
8. Morichi Y, Usui Y, et al. A case of acute retinal necrosis recurring in fellow eye 3 and 21 years after initial unilateral onset. The 11th International Ocular Inflammation Society Congress 2011. 11. 13-16, Goa, India
9. Okunuki Y, Usui Y, et al. Cytokine analysis and visual prognosis of Vogt-Koyanagi-Harada disease. The 11th International Ocular Inflammation

- Society Congress 2011. 11. 13-16, Goa, India
10. 馬詰朗比古、毛塚剛司、奥貫陽子、臼井嘉彦他 サルコイドーシスの眼病変と心病変との関連 第 65 回日本臨床眼科学会 2011. 10. 7-10 東京
 11. 松田隆作、毛塚剛司、臼井嘉彦他 インフリキシマブ治療中のベーチェット病ぶどう膜炎に対する内眼手術 第 65 回日本臨床眼科学会 2011. 10. 7-10 東京
 12. 臼井嘉彦他 視力予後良好であった急性網膜壊死の臨床像の検討 第 65 回日本臨床眼科学会 2011. 10. 7-10 東京
 13. 坂本俊哉、臼井嘉彦他 持続的な前房畜膿を伴った原因不明ぶどう膜炎の 1 例 第 45 回日本眼炎症学会 2011. 7. 8-10 京都
 14. 松田隆作、毛塚剛司、臼井嘉彦他 クリプトコッカス髄膜炎による視神経炎と CMV 網膜炎を併発した 1 例 第 45 回日本眼炎症学会 2011. 7. 8-10 京都
 15. 臼井嘉彦他 急性網膜壊死患者の前房水中ヘルペスウイルス DNA 量と臨床的意義 第 45 回日本眼炎症学会 2011. 7. 8-10 京都
 16. 臼井嘉彦他 眼内リンパ腫の硝子体内浸潤細胞における表面抗原の解析 第 29 回日本眼腫瘍学会 2011. 6. 25-26 福島
 17. 坂本俊哉、横井克俊、松永芳径、臼井嘉彦他 ベーチェット病ぶどう膜炎の診断基準確立に向けた統計学的解析 第 167 回東京医科大学医学会総会 2011. 6. 4 東京
 18. Okunuki Y, Usui Y, et al. Suppression of Experimental Autoimmune uveoretinitis by agonist of peroxisome proliferator activated receptor-gamma. ARVO Fort Lauderdale, Florida, May1-5, 2011
 19. Usui Y et al. Immunopathology of necrotizing scleritis The 11th International Ocular Inflammation Society Congress. 2011. 11. 13-16, Goa, India
 20. 臼井嘉彦 眼炎症性疾患に対する取り組みと最近のトピックス 第 168 回東京医科大学医学会総会 2011. 11. 5 東京
 21. 臼井嘉彦 ぶどう膜炎に対するインフリキシマブの使用経験 サイトカイン治療ネットワーク研究会 2011. 9. 14 東京
 22. 中川はやて、臼井嘉彦他 間葉系幹細胞を用いた実験的自己免疫性ぶどう膜網膜炎の抑制 第 167 回東京医科大学医学会総会 2011. 6. 4 東京

6. 研究組織

(1) 臼井 嘉彦 (USUI YOSHIHIKO)

東京医科大学・医学部・助教

研究者番号：50408142