

2009. 4

10. 酒井秀政、田原昌博、桑門克治、西小森隆太、重松陽介、水野隆久、荒川浩一、小原収、大嶋宏一、八角高裕、平家俊男：本邦における高 IgD 症候群と欧米症例との臨床的差異、第 19 回日本小児リウマチ学会総会・学術集会、2009. 10

H：知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

高 IgD 症候群の遺伝子診断に関する研究

研究分担者：小原 収

（かずさ DNA 研究所副所長）

研究要旨

高 IgD 症候群は、多くの臨床家において、未知の疾患である。本疾患に対する診療体系を確立するためには、その診断方法を確立し、治療基盤を提示する必要がある。しかし、日本における現状は、未だ確定診断方法すら存在しえない状況である。そのため、一般臨床家においては、周期性発熱疾患として、高 IgD 症候群が念頭に入っていない状況である。

高 IgD 症候群の原因は、メバロン酸キナーゼ（MK）活性低下であるが、メバロン酸キナーゼ活性測定系は日本では確立されておらず、欧米において報告されているメバロン酸キナーゼ遺伝子の変異を同定することが、確定診断につながる方策である。

このような背景を基に、周期性発熱をきたす疾患について、メバロン酸キナーゼ遺伝子変異について、検討を加えた。

A. 研究目的

自己炎症性症候群の概念が提唱されるようになり、やっと10年が経過したばかりである。いわんや高IgD症候群は、多くの臨床医にとって、血清IgDの高い疾患として理解されているのが現実である。しかしながら、我々の研究により、大多数の日本人の高IgD症候群の血清IgD値は、正常範囲内に留まることが明らかとなった。

このような背景のため、我国の高IgD症候群に対する診療体系は、混乱を極めている。これを解決するに、現在、オランダの研究所にメバロン酸キナーゼ活性測定系を依頼している。しかし、煩雑であり、費用もかかるため、疑い症例すべてにおいて行える検査ではない。

このような背景のもと、現在行える確定診断方法は、メバロン酸キナーゼ遺伝子変異を同定し、欧米での報告例と対比することにより診断する方法である。このため、周期性発熱をきたし、診断に苦慮する患者さんに対して、高IgD症候群を含む自己炎症性疾患に対する遺伝子診断を行う。

B. 研究計画・方法

京都大学小児科に自己炎症症候群の疑いで遺伝子検査の依頼のあった症例の中から、高IgD症候群が考慮されうる症例につき、京都大学病院の倫理規定に基づき遺伝子解析を行った。遺伝子解析は末梢血からゲノムDNAを抽出し、高IgD症候群の原因遺伝子であるMVK遺伝子のエクソン2からエクソン11までのすべて（エクソン1は非コード領域である）と、エク

ソン-イントロン・ジャンクション部位のシーケンスを行った。解析結果はヒトゲノムリファレンス配列におけるMVK遺伝子配列と比較し、欧米のデータベースINFEVERSにおいて疾患原性が報告されている変異・ならびに報告のない新規変異を抽出した。一塩基多型でアミノ酸配列に変化がないものは除外した。2007年に15例、2008年40例、2009年41例の高IgD症候群疑い患者の検体を京都大学小児科で受け入れていただき、2007年末より2009年末まで、そのほとんどの遺伝子解析をかずさDNA研究所で行った。

C. 研究結果ならびに今後の方針

すべての解析のうち2家系4症例においてMVK遺伝子のコンパウンドヘテロ型の変異が同定された。また、それぞれの患者の両親のゲノムDNAのシーケンスから、それぞれのアリルは両親由来であることを同定した。これらの2家系はいずれも近親婚ではなく、変異アリル計4つはすべて別の変異であった。このうち3つは、欧米で報告のない新規変異であったが、患者の尿中メバロン酸の高値と、後に行ったオランダの研究所に委託したメバロン酸キナーゼ活性の低値とから、これらは疾患原性のある変異であると判断した。

今後も同様の遺伝子解析を進めていく方針であるが、京都大学や尿中メバロン酸を測定している福井大学と密な連携を取りながら、また次世代シーケンサの導入等により解析効率を上げていく方針である。

D. 考察

高 IgD 症候群はオランダを初めとする欧州地域に多く発症するとされ、我国での MVK 遺伝子の変異に基づく症例報告は 2009 年の成戸らによる報告が最初であり、日本を含むアジア諸国では、人種間における遺伝子アリのルの差異から非常に稀と考えられていた。事実、欧州での報告例のうち半分は V377I という変異を持ち、この変異アリルが欧州地域に広く流布していると考えられるのに対して、我国での報告は第一例の報告と今回の変異例を含めて、V377I という変異は認めていない。また、我々が確認した症例において、変異アリルは近親婚で見られがちな同一変異のホモではなく、2 家系ともそれぞれまったく異なる変異型が同定されている。これらのことから、我国における高 IgD 症候群は欧州地域とは異なる変異型で存在し、また各地に散在しているものと推測される。

加えて、欧州地域における高 IgD 症候群が、発熱発作の折に腹部症状（腹痛・嘔吐・下痢）を呈するものが 8 割を超えるのに対して、我国での症例の中では成戸らの報告例を除けば 1 例（初発時に嘔吐）のみに留まっており、遺伝子変異型の差異による臨床症状の違いを呈している可能性がある。

また、欧州の報告で 22% の患者で血清 IgD が正常範囲であるという報告と同様に、我国の症例においても我々の同定した 4 例ともに、初期に不明熱の鑑別診断として測定した血清 IgD は正常値であり、高 IgD 症候群の診断においては、血清 IgD 値の測定は無益であるばかりか、本症候

群を無為に否定的と捉えてしまう可能性すら示唆された。

以上のことから、我国において、欧米で理解されている表現型とは異なる様式で高 IgD 症候群が診断不明のまま潜在、もしくは他の疾患群として診断・加療されている可能性が考えられる。このことは患者側からすれば、他疾患と診断を受け副腎皮質ホルモン剤などの投与を受けその副作用に晒されるリスクや、高 IgD 症候群が精神運動発達には影響を及ぼさないにも関わらず、欧州のレビューにあるように進学や就職において不利益を被るなどといった状況が想定される。

我国における高 IgD 症候群の正確な診断のため、今後も臨床症状の可能性を広く捉えて遺伝子解析を続行すべきであり、また欧州と変異型が異なることから、V377I 近縁のみならず、コード領域全長にわたって遺伝子解析を続行する必要があると考えられた。また我国では新規変異が多いことから、確定診断法であるメバロン酸キナーゼ活性測定法が我国でも可能になれば、より診断精度を上げる手段として期待される。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Keerthikumar S, Bhadra S, Kandasamy K, Raju R, Ramachandra YL, Bhattacharyya C, Imai K, Ohara O, Mohan S, Pandey A. Prediction of Candidate Primary Immunodeficiency Disease Genes Using a Support Vector Machine Learning

- Approach. *DNA Res.* 2009; in press
2. Kitajima M, Iwamura C, Miki-Hosokawa T, Shinoda K, Endo Y, Watanabe Y, Shinnakasu R, Hosokawa H, Hashimoto K, Motohashi S, Koseki H, Ohara O, Yamashita M, Nakayama T. Enhanced Th2 cell differentiation and allergen-induced airway inflammation in Zfp35-deficient mice. *J Immunol.* 2009;183: 5388-96.
 3. Mori H, Ouchida R, Hijikata A, Kitamura H, Ohara O, Li Y, Gao X, Yasui A, Lloyd RS, Wang JY. Deficiency of the oxidative damage-specific DNA glycosylase NEIL1 leads to reduced germinal center B cell expansion. *DNA Repair (Amst)* 2009; 8: 1328-32.
 4. Uchisaka N, Takahashi N, Sato M, Kikuchi A, Mochizuki S, Imai K, Nonoyama S, Ohara O, Watanabe F, Mizutani S, Hanada R, Morio T. Two brothers with ataxia-telangiectasia-like disorder with lung adenocarcinoma. *J Pediatr.* 2009;155: 435-8.
 5. Hashii Y, Yoshida H, Kuroda S, Kusuki S, Sato E, Tokimasa S, Ohta H, Matsubara Y, Kinoshita S, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Ohara O, Ozono K. Hemophagocytosis after bone marrow transplantation for JAK3-deficient severe combined immunodeficiency. *Pediatr Transplant.* 2010; in press
 6. Ohara O. From transcriptome analysis to immunogenomics: current status and future direction. *FEBS Lett.* 2009; 583: 1662-7.
 7. Qiu CH, Miyake Y, Kaise H, Kitamura H, Ohara O, Tanaka M. Novel subset of CD8[alpha]+ dendritic cells localized in the marginal zone is responsible for tolerance to cell-associated antigens. *J Immunol.* 2009;182: 4127-36.
 8. Sato K, Eizumi K, Fukaya T, Fujita S, Sato Y, Takagi H, Yamamoto M, Yamashita N, Hijikata A, Kitamura H, Ohara O, Yamasaki S, Saito T, Sato K. Naturally occurring regulatory dendritic cells regulate murine cutaneous chronic graft-versus-host disease. *Blood.* 2009; 113:4870-9.
 9. Keerthikumar S, Raju R, Kandasamy K, Hijikata A, Ramabadrans S, Balakrishnan L, Ahmed M, Rani S, Selvan LD, Somanathan DS, Ray S, Bhattacharjee M, Gollapudi S, Ramachandra YL, Bhadra S, Bhattacharyya C, Imai K, Nonoyama S, Kanegane H, Miyawaki T, Pandey A, Ohara O, Mohan S. RAPID: Resource of Asian Primary Immunodeficiency Diseases. *Nucleic Acids Res.* 2009;37:D863-7.
 10. Ikeda K, Yamaguchi K, Tanaka T, Mizuno Y, Hijikata A, Ohara O, Takada H, Kusuhara K, Hara T. Unique activation status of peripheral blood mononuclear cells at acute phase of Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol.* 2010; in press
 11. Oshima K, Yamazaki K, Nakajima Y, Kobayashi A, Kato T, Ohara O, Agematsu K. A case of familial Mediterranean

- | | |
|--|---|
| <p>fever associated with compound heterozygosity for the pyrin variant L110P-E148Q/M680I in Japan Mod Rheumatol. 2010; in press.</p> <p>12. 今井 耕輔、Sujatha Mohan、小原 收:免疫不全症候群の遺伝子診断の中央化とデータベース 臨床検査 53(5), 533-540 (2009)</p> <p>13. 大嶋 宏一、小原 收:免疫不全症遺伝子解析法の実際 臨床検査 53(5), 547-552 (2009)</p> | <p>(予定を含む)</p> <p>1. 特許取得
なし</p> <p>2. 実用新案登録
なし</p> <p>3. その他
なし</p> |
|--|---|

2) 学会発表

1. 酒井秀政、田原昌博、桑門克治、西小森隆太、重松陽介、水野隆久、荒川浩一、小原 收、大嶋宏一、八角高裕、平家俊男:本邦における高 IgD 症候群と欧米症例との臨床的差異. 第 19 回日本小児リウマチ学会総会・学術集会、2009. 10
2. 土方 敦司、大嶋 宏一、今井 耕輔、野々山 恵章、金兼 弘和、宮脇 利男、小原 收:原発性免疫不全症研究における問題解決のための情報科学的アプローチ 第3回日本免疫不全症研究会 2010年1月30日、東京
3. 森尾 友宏、今井 耕輔、小原 收、金兼 弘和、竹森 利忠、田中 敏郎、松本 功、原 寿郎:分類不能型免疫不全症の全国調査と亜群同定 第3回日本免疫不全症研究会 2010年1月30日、東京
4. Imai, K, Nonoyama, S, Oshima, K, Kanegane, H, Miyawaki, T, Ohara, O, Takemori, T, Hara, T. Primary Immunodeficiency Database Network in Japan. Keystone Symposia Human Immunology and Immunodeficiencies Beijing / China 2009年5月

H: 知的財産権の出願・登録状況

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

高 IgD 症候群の迅速鑑別診断に向けた尿中メバロン酸測定系の開発に関する
研究

研究分担者：重松 陽介
(福井大学医学部看護学科健康科学教授)

研究要旨

高 IgD 症候群は、コレステロール合成に重要なメバロン酸キナーゼをコードする遺伝子の変異が原因であるとされているが、わが国では診断法や診療体系が確立しておらず、また必ずしも血清 IgD 値は高値ではないこともあり、一般臨床家においては周期性発熱疾患としての認知が進んでいない。本症候群の確定診断法としてメバロン酸キナーゼ活性測定系があるが、手技が煩雑でありスクリーニング検査には適さない。一方、本症候群では、尿中のメバロン酸排泄量が軽度上昇しているとされているので、これを簡便に精度良く分析するスクリーニング法を開発した。この方法は、安定同位体希釈法によりメバロン酸のラクトン体をガスクロマト質量分析計で高感度分析する方法であり、キャピラリーカラムを用いて昇温分析条件を適正化することにより煩雑な固相抽出を省略することが出来、更にスクリーニングに適した方法となった。分析結果としては、健常対照者のメバロン酸尿中排泄量が $0.172 \pm 0.074 \mu\text{g}/\text{mgCr}$ であったのに対し、4 例の本症候群患者では、有熱時には $49.1\text{--}67.9 \mu\text{g}/\text{mgCr}$ 、無熱時には $11.3\text{--}18.5 \mu\text{g}/\text{mgCr}$ と増加していた。本法は、既報の分析法と比較しても更に簡便かつ精度の保たれた分析法であり、本症候群のスクリーニング法として充分活用でき、酵素活性測定による診断確定を組み合わせれば、更に患者の診断の効率化に寄与すると考えられた。

A. 研究目的

高 IgD 症候群は、コレステロール合成に重要な酵素であるメバロン酸キナーゼをコードする遺伝子の変異が原因であるとされている。本症患者においては、生後 1 年以内に悪寒と発熱の反復性発作が始まるが、この遺伝子異常が本症候群の臨床症状を引き起こす機序は未だ明らかではない。即ち、先天代謝異常症として知られ進行性の中樞神経障害を呈する“メバロン酸血症”とは臨床症状およびその重症度が明らかに異なる。高 IgD 症候群の検査所見としては血清 IgD 値が特徴的であり、尿中のメバロン酸 (MVA) 排泄量の軽度上昇が認められるとされているが、前者については、我々の研究では、日本人高 IgD 症候群の血清 IgD 値は正常範囲内に留まることが多かった。また、後者の尿中 MVA 排泄の特異性については、排泄増多は軽度であり、発熱時と非発熱時とでは差があるなど、検討の余地がある。そこで、既報のガスクロマト質量分析 (GC/MS) 法による MVA 測定法について、簡便迅速でかつ精度の高い方法となるように改良を加え、本症と診断されている症例において、尿中 MVA 排泄量を測定し、スクリーニング法としての有用であるかどうかを検討した。

B. 研究計画・方法

尿の0.5(0.05)mgCr相当量に、内部標準として [4,5-¹³C₂]mevalonolactone 1.5 μg を加え、5 N・HClでpH2.0として室温2時間放置することにより尿中MVAをラクトン化した後、CH₂Cl₂-isopropanol (9:1) による抽出操作を行った。抽出溶媒は無水硫酸ナ

トリウムで脱水した後、窒素気流下で乾燥し、BSTFAを加えて室温で一晩反応させ、MVAのラクトン体であるメバロノラクトン (MVL) をTMS誘導体化した。サンプルはEIイオン化によるGC/MS分析で分析した。使用機器はThermo-Fisher社製DSQで、GCにはHP社製Ultra-1キャピラリーカラムを使用し、50°Cから10°C/分の昇温分析とした。データ記録は、selected ion monitoring (SIM) により[M-15]⁺イオンをモニターし、クロマトグラムのピーク面積を用いて定量を行った。

C. 研究結果

図に示したように、本法のSIMクロマトグラムで、健常対照者においてもMVLのピークは分離が良好であり、感度も充分であった。

尿中MVA排泄量は、健常対照者で0.172 ± 0.074 μg/mgCrにあったのに対して、高IgD症候群患者 (n=4) では、有熱時には49.1-67.9 μg/mgCr、無熱時には11.3-18.5 μg/mgCrであった。

D. 考察ならびに今後の方針

生体試料中のMVAは、溶液のpHに応じて酸およびラクトン体として共存するため、その定量を行うためには適切な処理が必要である。今回検討した方法は資料液を酸性化し全てをラクトンとして回収する方法である。精度の高い分析とするためには内部標準として安定同位体標識体が必要であるが、現在入手可能な安定同位体標識体は[4,5-¹³C₂]mevalonolactoneのみであり、ラクトン体として分析するのが合理的である。ただし、標識体と非標識体との保

持時間が同一であり、クロマトグラム上の分離が不十分であるため、高濃度のMVAを分析する場合は資料を希釈する必要があるのが今後の改善点である。実際、患者尿では10倍希釈して分析した。

それ以外の点ではスクリーニング法としての感度と精度を有しており、健常対照者と患者とを区別することが可能と考えられたが、患者の重症度によっては排泄量が更に少ない可能性もあるので、酵素活性測定による確定診断を行いながら、本法の精度を確認していく必要がある。

ともあれ、本法は、既報の分析法と比較しても更に簡便かつ精度の保たれた分析法であり、本症候群のスクリーニング法として充分活用でき、酵素活性測定による診断確定を組み合わせ、更に患者の診断の効率化を図るべきであると考えられた。

E. 研究発表

1) 論文発表

- 1) Tsuburaya R, Sakamoto O, Arai N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Ohura T, Tsuchiya S: Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase capital I, Ukrainian (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan. *Brain Dev* 2009.
- 2) Nagasaka H, Okano Y, Tsukahara H, Shigematsu Y, Momoi T, Yorifuji J, Miida T, Ohura T, Kobayashi K, Saheki T, Hirano K, Takayanagi M, Yorifuji T: Sustaining hypercitrullinemia, hypercholesterolemia and augmented oxidative stress in Japanese

children with aspartate/glutamate carrier isoform 2-citrin-deficiency even during the silent period. *Mol Genet Metab* 97(1): 21-26, 2009.

- 3) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Li H, Fukuda S, Shigematsu Y, Fukao T, Yamaguchi S: A novel molecular aspect of Japanese patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD): c.449-452delCTGA is a common mutation in Japanese patients with MCADD. *Mol Genet Metab* 96(2): 77-79, 2009.

2) 学会発表

1. 酒井秀政、田原昌博、桑門克治、西小森隆太、重松陽介、水野隆久、荒川浩一、小原収、大嶋宏一、八角高裕、平家俊男：本邦における高 IgD 症候群と欧米症例との臨床的差異。第 19 回日本小児リウマチ学会総会・学術集会、2009. 10
2. 重松陽介、畑郁江、酒井秀政、八角高裕、平家俊男、西小森隆太：高 IgD 症候群スクリーニングのための尿中メバロン酸定量。第 34 回日本医用マズスペクトル学会。2009, 9

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

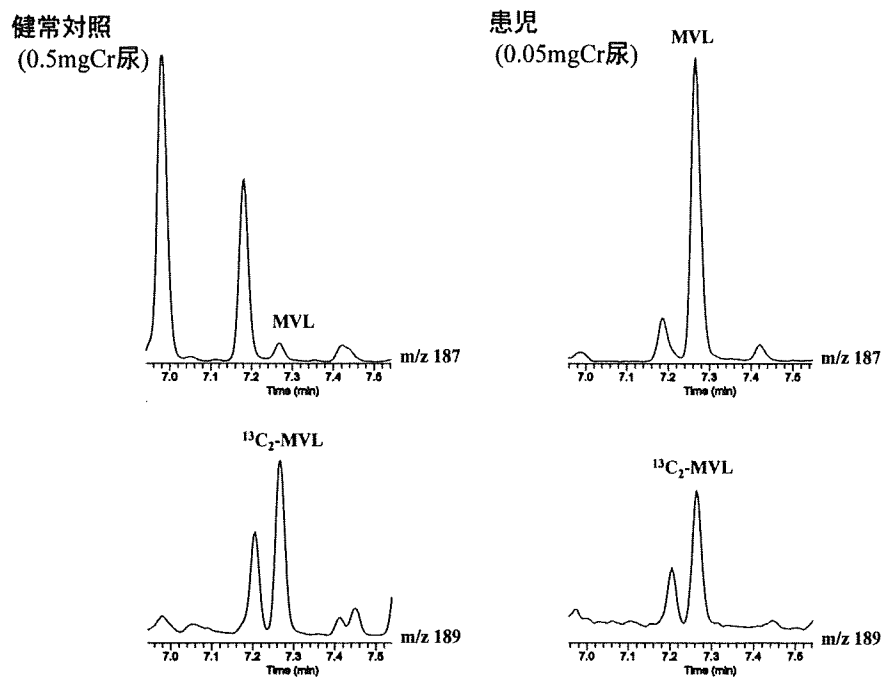


図 尿中 mevalonolactone (MVL) 分析における SIM クロマトグラム

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

自己免疫疾患の疫学に関する研究

研究分担者：横田 俊平

（横浜市立大学医学研究科小児科学教授）

研究要旨

高 IgD 症候群はメバロン酸キナーゼ（MK）をコードする MVK 遺伝子の機能喪失型変異により発症する自己炎症性疾患の 1 つである。その臨床症状は、炎症症状としての発熱、関節炎に留まるものから、精神発達遅延、小脳失調、発育不全、白内障等の重度障害を来すものまで存在する。世界で 100 例以上が報告されているのに対し、日本では 2008 年末時点で 2 症例が報告されているのみであった。本症の特異な臨床的所見は周期性発熱のみであり、臨床所見からの確定診断は困難である。そのため、種々の自己免疫疾患とも混同されている場合もあるのではないかと推測される。

我々は、日本における小児自己免疫疾患について、網羅的に診療、解析を行っている。日本の小児自己免疫疾患の現状を再度評価することにより、自己炎症性疾患（高 IgD 症候群を含む）との鑑別について、考察する。

A. 研究目的

高 IgD 症候群はメバロン酸キナーゼ (MK) をコードする MVK 遺伝子の機能喪失型変異により発症する自己炎症性疾患の 1 つである。世界で 100 例以上が報告されているのに対し、日本では H20 年度末で疑い 2 症例が報告されているのみである。また、高 IgD 症候群の学会報告は散発的に認めるものの、それらを体系的に評価した報告はない。高 IgD 症候群の主症状は周期性発熱であり、高 IgD 症候群の診療体系が確立されていない現在、自己免疫疾患との鑑別に苦慮する症例が存在することも推測される。

自己免疫疾患（リウマチ・膠原病）は多くの症例で不明熱を初発症状として認めることから、高 IgD 症候群を鑑別するうえできわめて重要な疾患群である。とくに難治例の検討が重要であることから、難治例を対象に全国約 3,500 施設に一次調査を実施し、難治例を集計することとした。同時に炎症学的検討により、難治性病態の解明を行い、治療法の是非につき検討を行う。これらの研究の総合的な帰結として、現時点で最良と考えられる診断・治療ガイドラインの作成を行う。

B. 研究計画・方法

小児期の自己免疫疾患は、臨床的にはリウマチ・膠原病の範疇に属し、わが国では依然発生頻度すら明らかにされていない。臨床的には難治例の発生とその病態の検討することが喫緊に課題であり、そのための調査研究をすすめる。方法としては、一次アンケート調査により難治例の全国的な発生数を把握し、ついで二次詳細調査により病態の詳しい検討を行う。国際的な文

献検索から当調査より得られた難治例の病態につき検討を加え、かつ死亡例の収集を行い、担当医と病理医からなる検討会を開催して難治性病態の解明に当たる。その結果をもって診断・治療ガイドラインへつなげる。

C. 研究結果ならびに今後の方針

全国約 3,000 施設にアンケートを行った結果、1,123 施設から回答を得た。このうち難治例を経験した施設は 410 施設にのぼった。症例は 2,832 例であった。

難治例は、若年性特発性関節炎が 1,319 例、全身性エリテマトーデスが 633 例、若年性皮膚筋炎が 252 例、小児強皮症が 31 例、混合性結合組織病が 92 例、血管炎症候群が 110 例であった。

死亡例の報告も得たが、若年性皮膚筋炎で 4.8%、混合性結合組織病で 4.3%と、成人に比較しても極めて高い頻度であることが判明した。

今後、この死亡例につき担当医と病理医からなる検討会を開催し、死亡原因の共通性につき検討を行う。

D. 考察

高 IgD 症候群は周期性発熱、下肢痛などを周症状とする自己炎症症候群のひとつで、その鑑別疾患の主たるものとしてリウマチ・膠原病がある。今回、その難治性病態につき全国調査を踏まえ、実態の把握を行った。その結果、難治性病態を呈するリウマチ・膠原病は、全国くまなく存在しており、非専門施設での診断・治療に関する混乱が読み取れた。

とくに若年性皮膚筋炎、混合性結合組織病は、死亡率が 4~5%に達しており、対策は喫緊の課題であることが判明した。

E. 結論

高IgD症候群との主要な鑑別疾患である小児リウマチ・膠原病の難治性病態の検討から、若年性皮膚筋炎、混合性結合組織において高い死亡率が把握された。その死亡原因については依然解明されておらず、今後、病理学的な検討が必須と考えられた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Sato M, Mori M, Nishimaki S, An H, Naruto T, Sugai T, Shima Y, Seki K, Yokota S: Soluble tumor necrosis factor receptor-1 in preterm infants with chronic lung disease. *Pediatr Int.* in press 2009.
2. Sato M, Nishimaki S, An H, Shima Y, Naruto T, Sugai T, Iwasaki S, Seki K, Imagawa T, Mori M, Yokota S: Soluble tumor necrosis factor receptor-1 in preterm infants with chorioamnionitis. *J Obstet Gynaecol Res.* 35:252-257, 2009.
3. Nakajima S, Naruto T, Miyamae T, Imagawa T, Mori M, Nishimaki S, Yokota S: Interleukin-6 inhibits early differentiation of ATDC5 chondrogenic progenitor cells. *Cytokine.* 47:91-97, 2009.
4. Nishimaki S, Sato M, An H, Shima Y, Akaike T, Yokoyama U, Yokota S: Comparison of markers for fetal inflammatory response syndrome: fetal blood interleukin-6 and neonatal urinary

beta(2)-microglobulin. *J Obstet Gynaecol Res.* 35:472-476, 2009.

5. Takahashi A, Mori M, Naruto T, Nakajima S, Miyamae T, Imagawa T, Yokota S: The role of heme oxygenase-1 in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol.* 19:302-308, 2009
6. Tadaki H, Arakawa H, Mizuno T, Suzuki T, Takeyama K, Mochizuki H, Tokuyama K, Yokota S, Morikawa A.: Double-stranded RNA and TGF-alpha promote MUC5AC induction in respiratory cells. *J Immunol.* 182:293-300, 2009.

2) 学会発表

1. Yokota, S. Recent progress of diagnosis and treatment for children with juvenile idiopathic arthritis. The Korean Pediatric Society Annual Meeting 2009.
2. Yokota S. Auto-inflammatory diseases in childhood: Clinical and genetic advances. The 9th World Congress on Inflammation 2009.
3. Yokota S. Juvenile idiopathic arthritis: from care to cure. The 39th Annual Congress of the Japanese Society for Immunology.

H: 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録

- なし
- 3. その他
 - なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

日本人高 IgD 症候群の臨床所見の把握に関する研究

研究分担者：荒川 浩一 群馬大学大学院小児科学教授
研究協力者：水野 隆久 群馬大学医学部附属病院小児科

研究要旨

高 IgD 症候群はメバロン酸キナーゼ（MK）をコードする MVK 遺伝子の機能喪失型変異により発症する自己炎症性疾患の 1 つである。その臨床症状は、炎症症状としての発熱、関節炎に留まるものから、精神発達遅延、小脳失調、発育不全、白内障等の重度障害を来すものまで存在する。世界で 100 例以上が報告されているのに対し、日本では 2008 年末時点で 2 症例が報告されているのみであった。本症の特異な臨床的所見は周期性発熱のみであり、臨床所見からの確定診断は困難である。また、名前の由来となっている高 IgD 血症を呈さない症例の報告も多い。一方、確定診断に結びつく MK 活性測定、尿中メバロン酸測定は国内では確立されておらず、現時点での日本における高 IgD 症候群の診療体系は未整備である。

我々は、周期熱を示す 3 兄妹において、遺伝子検査、尿中メバロン酸測定、メバロン酸キナーゼ活性測定をすることにより、初めて高 IgD 症候群と診断しえた症例を経験した。この患者さんにおける臨床症状、検査所見等、患者プロフィールを集積し、欧米例と対比検討した。

A. 研究目的

高 IgD 症候群はメバロン酸キナーゼ (MK) をコードする MVK 遺伝子の機能喪失型変異により発症する自己炎症性疾患の 1 つである。世界で 100 例以上が報告されているのに対し、日本では H20 年度末で疑い 2 症例が報告されているのみである。また、高 IgD 症候群の学会報告は散発的に認めるものの、それらを体系的に評価した報告はない。

一方、高 IgD 症候群診断の精度という意味では、疑問の念が払拭しきれない。高 IgD 症候群の診断は、尿中メバロン酸高値、メバロン酸キナーゼ (MK) 活性欠損という分子学的基盤をもって確定診断となる。しかし、日本においては、尿中メバロン酸測定、メバロン酸キナーゼ (MK) 活性測定は確立されておらず、上記の症例がどのような経緯をもって診断されてきたのか、しっかり検証を行う必要がある。

今回、我々は、京都大学医学部小児科との共同研究のもと、高 IgD 症候群と確定診断し得た 3 兄妹例を経験したので、その詳細について報告する。

B. 症例

【症例 1】3 歳 6 カ月、男児。

【症例 2】1 歳 5 カ月、女児。

1 卵性双胎第 1 子。

【症例 3】1 歳 5 カ月、女児。

1 卵性双胎第 2 子。

3 症例ともに生後 1 カ月頃より炎症反応高値の発熱を繰り返したが、各種感染症検査、免疫能検査では異常所見はみられ

なかった。血清 IgA、IgD の上昇もみられなかった。この 3 症例に対して、高 IgD 症候群などの自己炎症症候群を疑って原因遺伝子の検索、尿中メバロン酸キナーゼ測定、メバロン酸キナーゼ活性測定を行った。

C. 研究結果ならびに今後の方針

MVK 遺伝子では、gDNA direct シークエンスにて、3 例ともに MVK 遺伝子の Exon4 の 1 塩基手前に Heterozygous G>A の変異、Exon9 に Heterozygous T>C を認めた。また、両親も同様の検査を行い、Exon4 の 1 塩基手前の変異は父親由来、Exon9 の変異は母親由来と考えられた。さらに、mRNA RT-PCR for exon2-exon5(505bp)にて、Exon4 の 1 塩基手前に Heterozygous G>A の変異を持つ 4 人において、約 150bp の短いバンドを確認した (図 1)。また、3 兄妹にて Subcloning cDNA Sequence を行い、cDNA の片方のアリル (Clone B) で Exon4 の欠失を、もう片方のアリル (Clone A) で Exon9 の変異を認めた。以上により、3 兄妹の MVK 遺伝子変異は Compound Heterozygous と確定した (図 2)。

次に、3 兄妹におけるメバロン酸キナーゼ活性を測定したところ、コントロールと比較して著しく低下していた。また、発作時と間欠時における尿メバロン酸は、コントロールと比較して、いずれも高値を示した (表)。以上により、3 症例ともに IgD 高値を認めなかったが、高 IgD 症候群と確定した。

D. 考察

Ammouri らによると (Rheumatology 46,1597-1600,2007)、高 IgD 症候群を臨床的に疑った患者 50 名のうち、IgD 上昇を認めたのは 38 名、IgD 上昇を認めなかったのは 12 名であった。この 12 名のうち、mvk 変異を認めたのは 5 名であり、IgD はスクリーニングとして有用ではないとしている。さらに、発熱発作の初回年齢が低いほど IgD 正常例は多いと報告しており、本症例のように、発症年齢が低い場合には、川崎病などとの鑑別に際し、IgD がスクリーニングとして特に有用ではないと考えられた。

E. 結論

Compound heterozygous な変異をもつ高 IgD 症候群の 3 兄妹例を経験した。3 例ともに血清 IgD の上昇はみられず、遺伝子検査、尿中メバロン酸測定、メバロン酸キナーゼ活性測定を行うことで診断しえた。本邦においても高 IgD 症候群の診療体系を整備する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Tadaki H, Arakawa H, Mizuno T, Suzuki T, Takeyama K, Mochizuki H, Tokuyama K, Yokota S, Morikawa A.: Double-stranded RNA and TGF- α promote MUC5AC induction in respiratory cells. J Immunol. 182(1):293-300. 2009
2. Kobayashi T, Inoue Y, Otani T, Morikawa A, Kobayashi T, Takeuchi K, Saji T, Sonobe T, Ogawa S, Miura M,

Arakawa H.: Risk Stratification in the Decision to Include Prednisolone With Intravenous Immunoglobulin in Primary Therapy of Kawasaki Disease. Pediatr Infect Dis J. 28(6):498-502. 2009

3. 小林徹、小林富男、荒川浩一、 γ グロブリン不応例の予測と層別化 小児内科 41 : 69-72, 2009

2) 学会発表

1. 酒井秀政、田原昌博、桑門克治、西小森隆太、重松陽介、水野隆久、荒川浩一、小原収、大嶋宏一、八角高裕、平家俊男：本邦における高 IgD 症候群と欧米症例との臨床的差異。第 19 回日本小児リウマチ学会総会・
2. (なし)

H : 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

高 IgD 症候群の疫学に関する研究

研究分担者：原 寿郎

（九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野教授）

研究要旨

高 IgD 症候群はメバロン酸キナーゼ（MK）をコードする MVK 遺伝子の機能喪失型変異により発症する自己炎症性疾患の 1 つである。その臨床症状は、炎症症状としての発熱、関節炎に留まるものから、精神発達遅延、小脳失調、発育不全、白内障等の重度障害を来すものまで存在する。世界で 100 例以上が報告されているのに対し、日本では 2008 年末時点で 2 症例が報告されているのみであった。本症の特異な臨床的所見は周期性発熱のみであり、臨床所見からの確定診断は困難である。また、名前の由来となっている高 IgD 血症も、その有無について、疑問の点が多い。また、確定診断に結びつく MK 活性測定、尿中メバロン酸測定は国内では確立されておらず、現時点での日本における高 IgD 症候群の診療体系は未整備である。

今後、日本における高 IgD 症候群の診療体系を確立していくためにも、現時点での、所謂高 IgD 症候群の日本における実態を把握する必要がある。この基盤の上に立ち、我国に適した、高 IgD 症候群に対する診療体系を確立する必要がある。

このため、我々が原発性免疫不全症を対象としたアンケート調査により把握している高 IgD 症候群の患者さんにおいて、臨床症状、検査所見等、患者プロフィールを集積する。

A. 研究目的

高 IgD 症候群はメバロン酸キナーゼ (MK) をコードする MVK 遺伝子の機能喪失型変異により発症する自己炎症性疾患の 1 つである。世界で 100 例以上が報告されているのに対し、日本では H20 年度末で疑い 2 症例が報告されているのみである。また、高 IgD 症候群の学会報告は散発的に認めるものの、それらを体系的に評価した報告はない。

一方、高 IgD 症候群診断の精度という意味では、疑問の念が払拭しきれない。高 IgD 症候群の診断は、尿中メバロン酸高値、メバロン酸キナーゼ (MK) 活性欠損という分子学的基盤をもって確定診断となる。しかし、日本においては、尿中メバロン酸測定、メバロン酸キナーゼ (MK) 活性測定は確立されておらず、上記の症例がどのような経緯をもって診断されてきたのか、しっかり検証を行う必要がある。

このような中、我々が行っている原発性免疫不全症に対するアンケート調査にて判明した高 IgD 症候群について、報告する。

B. 研究計画・方法

我々は、本研究に並行して、原発性免疫不全症について、厚生労働省血液系疾患調査研究事業として、アンケートによる実態調査を実施している。国際分類により、自己炎症性疾患は原発性免疫不全症の中に分類されている。そのため、高 IgD 症候群も調査対象疾患として取り上げられている。アンケート調査にて判明した高 IgD 症候群の実態について検討した。

C. 研究結果ならびに今後の方針

厚生労働省血液系疾患調査研究事業としての実態調査 (二次調査票) として把握している高 IgD 症候群例は 1 例である。しかし、この症例については、臨床診断名が高 IgD 症候群と記載されているにもかかわらず、メバロン酸キナーゼ活性は正常と記載されている。一方、NEMO 遺伝子に変異を有するとも記載されており、血清 IgD 値高値をもってのみ高 IgD 症候群として報告されていることが判明した。

D. 考察

本症例は高 IgD 症候群ではなく、NEMO 欠損症であると思われる。本症例が高 IgD 症候群として登録されてきた理由は、調査票では確認できないが、血清 IgD 値が高値であったためと推測される。しかし、高 IgD 症候群の病態は、メバロン酸キナーゼ活性低下であり、血清 IgD 値高値は付随事項である。実際、欧米の報告によれば、高 IgD 症候群と確定診断された症例においても、血清 IgD 値が正常範囲に収まる症例も数多く報告されている。一方、本疾患と異なる発熱性疾患において、血清 IgD 値の高値を示すことも報告されており、高 IgD 症候群という疾患名そのものに、診断の混乱をきたす要因があると思われる。

E. 結論

高 IgD 症候群の診断において、混乱を認める。日本における確定診断法としての、尿中メバロン酸測定、メバロン酸キナーゼ活性測定が確立されていないことも 1

つの要因であると推測されるが、本症例のように、メバロン酸キナーゼ活性が正常範囲と測定されているにもかかわらず高 IgD 症候群として報告されてきたことに、高 IgD 症候群について、より一層の啓蒙の必要性を痛感する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Minegishi Y, Saito M, Nagasawa M, Takada H, Hara T, Tsuchiya S, Agematsu K, Yamada M, Kawamura N, Ariga T, Tsuge I, Karasuyama H: Molecular explanation for the contradiction between systemic Th17 defect and localized bacterial infection in hyper-IgE syndrome. *J Exp Med.* 206: 1291-301, 2009.
2. Tabrizi SJ, Niino H, Masui M, Yoshimoto G, Iino T, Kikushige Y, Wakasaki T, Baba E, Shimoda S, Miyamoto T, Hara T, Akashi K. T Cell Leukemia/Lymphoma 1 and Galectin-1 Regulate Survival/Cell Death Pathways in Human Naïve and IgM+ Memory B Cells through Altering Balances in Bcl-2 Family Proteins. *J Immunol.* 182: 1490-1499, 2009.
3. Tsuboi S, Takada H, Hara T, Mochizuki N, Funyu T, Saitoh H, Terayama Y, Yamaya K, Ohyama C, Nonoyama S, Ochs HD: FBP17 Mediates a Common Molecular Step in the Formation of Podosomes and Phagocytic Cups in Macrophages. *J Biol Chem.* 284: 8548-56, 2009.
4. Inuo M, Ihara K, Matsuo T, Kohno H, Hara T: Association study between B- and T-lymphocyte attenuator gene and type 1 diabetes mellitus or systemic lupus erythematosus in the Japanese population. *Int J Immunogenet.* 36:65-8, 2009
5. Yamaguchi K, Ikeda K, Ihara K, Takada H, Kusuhara K, Hara T : Lack of association between E148Q MEFV variant and Kawasaki disease. *Hum Immunol.* 70: 468-71, 2009.
6. Ikeda K, Yamaguchi K, Tanaka T, Mizuno Y, Hijikata A, Ohara O, Takada H, Kusuhara K, Hara T: Unique activation status of peripheral blood mononuclear cells at acute phase of Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol.* in press 2009.
7. Muneuchi J, Ohga S, Ishimura M, Ikeda K, Yamaguchi K, Nomura A, Takada H, Abe Y, Hara T: Cardiovascular complications associated with chronic active Epstein-Barr virus infection: *Pediatr Cardiol.* 30: 274-81, 2009.
8. Ishimura M, Saito M, Ohga S, Hoshina T, Baba H, Urata M, Kira R, Takada H, Kusuhara K, Kang D, Hara T: Fulminant sepsis/meningitis due to Haemophilus influenzae in a protein C-deficient heterozygote treated with activated protein C therapy. *Eur J Pediatr* 168 :673-677, 2009
9. Kusuhara K, Ohga S, Hoshina T, Saito M, Sasaki Y, Ishimura M, Takada H, Fujita M, Hara T: Disseminated Bacillus Calmette-Guérin lymphadenitis in a patient with gp91phox- chronic