

201024073A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

TNF 受容体関連周期性症候群(TRAPS)の病態
の解明と診断基準作成に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

平成 23(2011)年 5 月

研究代表者 堀内孝彦

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

TNF 受容体関連周期性症候群(TRAPS)の病態
の解明と診断基準作成に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

平成 23(2011)年 5 月

研究代表者 堀内孝彦

九州大学大学院 病態修復内科学分野

目 次

I. 総括研究報告	1
堀内 孝彦 (九州大学大学院病態修復内科学分野)	
II. 分担研究報告	
1. 不明熱における自己炎症性症候群の遺伝子変異検索	9
石ヶ坪 良明 (横浜市立大学病態免疫制御内科学)	
2. PFAPA 症候群の臨床的検討	14
楠原 浩一 (産業医科大学小児科)	
3. 自己炎症性疾患の鑑別に有用なバイオマーカーの検討	18
武井 修治 (鹿児島大学医学部保健学科)	
4. 炎症性疾患の病態における TNF α とインターロイキン 1β の相互作用に関する基礎的研究	23
籾田 清次 (自治医科大学内科学講座アレルギー膠原病学部門)	
5. TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の患者数の推計	29
鷺尾 昌一 (聖マリア学院大学看護学部)	
6. 全国不明熱患者の遺伝子解析結果と情報収集のための 全国規模組織の確立	36
井田 弘明 (久留米大学医学部 呼吸器・神経・膠原病内科)	
7. 成人スチル病に対する生物学的製剤治療の有用性に関する研究	43
高橋 裕樹 (札幌医科大学医学部第一内科)	
8. 自己抗体によるサイトカイン誘導に関する研究	49
藤井 隆夫 (京都大学大学院医学研究科内科学講座臨床免疫学)	
9. TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) および関連疾患 の遺伝子解析	53
田平 知子 (九州大学生体防御医学研究所)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	59
IV. サーベイランス資料	70

総括研究報告

TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）の病態の解明と診断基準作成に関する研究

研究代表者 堀内 孝彦 九州大学大学院

病態修復内科学分野准教授

研究要旨

TNF 受容体関連周期性症候群（TNF receptor-associated periodic syndrome: TRAPS）は近年国内外で注目されている自己炎症症候群のなかでも代表的な疾患である。TNF 受容体 1 型の遺伝子異常が原因として報告されたが、詳しい病態は不明である。従って確立した診断基準もなく、患者の実態調査も進んでいないのが実情である。本研究班は、本邦 TRAPS の実態調査を行い、病態を解明し、本邦 TRAPS の診断基準を作成することを目的としている。平成 22 年度は、国内外でも初めてといえる大規模な全国調査を実施し 263 名の TRAPS 疑い患者を見出した。確定診断のための遺伝子解析にも着手し、解析した 37 名のうち 2 名に TNF 受容体 1 型遺伝子の異常、1 名に家族性地中海熱の遺伝子異常を見出した。今後、TRAPS 確定症例をさらに蓄積して、基礎的・臨床的データを解析して、診断基準を完成させる。あわせて、中・長期的な研究計画も提示する。

研究分担者

石ヶ坪良明 横浜市立大学病態免疫制御内科 教授
楠原浩一 産業医科大学小児科 教授
武井修治 鹿児島大学保健学科 教授
養田清次 自治医科大学アレルギー膠原病内科 教授
鷺尾昌一 聖マリア学院大学看護学部教授
井田弘明 久留米大学第一内科 准教授
高橋裕樹 札幌医科大学第一内科 准教授
藤井隆夫 京都大学臨床免疫学 准教授
田平知子 九州大学生体防御医学研究所ゲノム構造学 助教

研究協力者

徳永章二 九州大学病院メディカルインフォメーションセンター 講師

A. 研究目的

発熱や関節痛、皮疹を繰り返す病態は日常臨床でときどき遭遇するが、診断困難例がまれならず存在し、その一部に自己炎症症候群(Autoinflammatory syndrome)患者が含まれることが明らかになってきた。自

己炎症症候群の代表的疾患として tumor necrosis factor (TNF) 受容体の変異が関連する TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS)があり、発熱、皮疹、関節痛、漿膜炎など多彩な症状を繰り返し、時に重篤なアミロイドーシスを併発する。本邦では私どもの報告 (Horiuchi T et al. *Int J Mol Med* 2004) をふくめ 10 例足らずの報告しかないが、欧米ではすでに多数の報告が見られ、本邦でも潜在患者は少なくないと推測される。TRAPS の病態には TNF 受容体の変異が関与していると推測されるが、詳しいメカニズムは不明である。

本研究の目的は、1) 本邦での TRAPS 患者数を把握する、2) 特徴的な症状や経過を明らかにする、3) 重症度と TNF 受容体異常の関連を明らかにする、4) TRAPS 患者の遺伝子解析、細胞生物学的解析によ

り病態解明をおこなう、それに基づいて、5) 診断指針を作成することである。TRAPS の診断基準は確立されたものではなく、また全国的な疫学調査も世界的に見ても皆無であることから、本研究の意義は大きいと思われる。

厚生労働行政の課題との関連について付言する。厚生労働省難治性疾患克服研究事業では、様々な慢性炎症性疾患が対象として研究されている。その中で、ベーチェット病や成人スチル病、若年性特発性関節炎 (JIA) など診断に特異的な症状や検査がない疾患は診断に苦慮することも多い。これら疾患は、TRAPS と症状、検査所見、治療法に類似点が多く、本研究班の武井は、当初 JIA と誤診され、のちに TRAPS と判明した 2 例を報告している (*Allerg Int* 2006)。厚生労働省の難病対策を推進する上で、炎症性疾患の的確な診断はその大前提ともいえ、TRAPS の疾患概念を確立することは厚生労働省施策の適切な遂行につながる。

B. 研究方法

TRAPS の病態解明、診断基準作成のための研究方法は以下の大きく 4 つの段階に分けられる。第 1 段階は、TRAPS 疑い患者同定のための全国調査、第 2 段階は、遺伝子解析による確定診断であり、第 3 段階は臨床症状、検査値、患者リンパ球の機能異常の解析結果と遺伝子解析結果を照合し、診断基準を作成する、第 4 段階は TRAPS の病態を解明することである。今回の報告ではこのうちの第 1 段階と第 2 段階が中心となる。

第 1 段階：全国の 200 床以上のすべての病院の内科、小児科 2,900 施設に「一次調

査票」を送付して TRAPS 疑い患者を拾い出した。200 床以下の病院を対象としなかった理由は、TRAPS 診断には専門医が必要であり、通常は大規模な病院に患者が不明熱として紹介されるからである。さらに本研究では班員が所属するほかの厚生労働省研究班「ベーチェット病研究班」(班長・石ヶ坪)、日本小児リウマチ学会(運営委員長・武井、楠原)、自己炎症疾患研究会(発起人・井田)、成人スチル病研究会(高橋、蓑田、藤井)を通じてさらにきめ細かく患者を掘り起こす努力を続けている。平成 22 年 10 月、TRAPS 疑い患者ありと回答した施設すべてに詳細な臨床症状、検査所見、治療経過を問い合わせる「二次調査票」を送付し、回収中である。また同時に遺伝子解析への同意を依頼しており、倫理委員会の承認が得られた施設から、順次検体を九州大学に送付いただいている。

第 2 段階：遺伝子解析は、TRAPS ならびにそれと鑑別が必要な家族性地中海熱、メバロン酸キナーゼ欠損症の原因遺伝子について行う。これら遺伝子 (TNFRSF1A, MEFV, MVK) の全遺伝子領域、すなわち全エクソンをそれぞれ特異的に増幅するプライマーを設定し、PCR 産物の塩基配列を決定する。九州大学病態修復内科分野(堀内)ならびに生体防御医学研究所ゲノム構造学分野(田平)で遺伝子解析をおこなう。TRAPS 疑い患者(最終的には各施設の倫理委員会を通過した「疑い患者」全員 263 名を目標)と健常人(次項にある生体防御医学研究所が保管する 7,630 名の検体のうち必要な数)について行う。

(倫理面への配慮)

TRAPS 疑い患者の遺伝子解析は、「自己炎

症性症候群の原因遺伝子の解析」の課題名で九州大学倫理委員会の承認を得ている（平成 22 年 7 月 16 日、承認番号 399-0）。さらにすべての共同研究施設において本研究の遂行について倫理委員会の承認を得て検体を採取するように依頼している。各施設から送られてきた検体は、九州大学病院医療情報部にて資料番号を付けて連結可能匿名化の状態で作成する。健常人試料は、1990～1996 年に文部省がん特定研究総括班「コホート研究による発がん要因の評価に関する研究班」によって一般市民から提供された 7,630 検体である。これら検体の一部の分与を九州大学生体防御医学研究所が受け、九州大学倫理委員会の承認を得たものである。採取施設情報のみとリンクし、個人情報とは一切連結不可能としている。

C. 研究結果

1. TRAPS 全国疫学調査（一次調査）

（表 1）2010 年 8 月実施

第一回班会議（2010 年 7 月、福岡で開催）での検討結果に基づき、全国の 200 床以上の病院すべての内科 1718 施設、すべての小児科 1182 施設、合計 2,900 施設に対して TRAPS 疑い患者の有無を問う一次調査票

を送付した。内容は、2009 年 1 月～12 月の 1 年間に受診した患者の中で、以下の質問のいずれかに相当する患者を「TRAPS 疑い」とした（質問 1：原因不明の高熱（38℃以上）を繰り返し、かつ腹痛、筋肉痛、皮疹、結膜炎、眼周囲浮腫、関節痛のいずれかをともなう症例、質問 2：全身型若年性特発性関節炎(sJIA)あるいは成人スチル病と診断されているが慢性の持続する関節炎がなく、再燃を繰り返す症例）。すなわち一次調査では原因不明の周期性発熱患者の中から、TRAPS 疑い症候を持つ患者を幅広く拾い上げることを目的としている。また前述の理由で 200 床以上の病院を調査対象とした。1807 施設から回答があり（回答率 62.3%）、うち 154 施設から 263 名の TRAPS 疑い患者が報告された。小児科からの回答率は 82.9%ときわめて高かった。疑い患者数の推計は機関を単位として、患者の人数に依存せずランダムに回答があったと仮定した。すなわち、回答率の逆数で重み付けして総患者数を Stata version 11 (Stata Coop., Texas USA)にて推測した。その結果、TRAPS 疑い患者は全国に約 423 名いると推測された。

表 1. TRAPS疑い全国調査

診療科	病院種別	対象	機関数				患者あり 医療機関数		報告 患者数		(患者有医療機関数) (回収機関数)	(報告患者数) (回収機関数)	(報告患者数) (患者有医療機関数)	単純推定に よる患者数
			調査(n)	(%)	回収(n)	(%)								
内科	大学病院	97	97	100	63	64.9	16	32	0.254	0.508	2.000	49.3		
	500床以上	304	304	100	155	50.9	18	42	0.116	0.271	2.333	82.4		
	400-499床	239	239	100	131	54.8	13	24	0.099	0.183	1.846	43.8		
	300-399床	490	490	100	216	44.3	16	33	0.074	0.153	2.063	74.9		
	200-299床	588	588	100	261	44.3	11	13	0.042	0.050	1.182	29.3		
	小計	1718	1718	100	826	48.0	74	144				279.6		
小児科	大学病院	94	94	100	76	80.8	21	35	0.276	0.461	1.667	43.3		
	500床以上	262	262	100	212	80.9	16	24	0.075	0.113	1.500	29.7		
	400-499床	197	197	100	181	91.8	13	18	0.072	0.099	1.385	19.6		
	300-399床	335	335	100	291	86.8	19	27	0.065	0.093	1.421	31.1		
	200-299床	294	294	100	221	75.1	11	15	0.050	0.068	1.364	20.0		
	小計	1182	1182	100	981	82.9	80	119				143.6		
	計	2900	2900	100	1807	62.3	154	263				423.2		

2. TRAPS 全国疫学調査（二次調査）2010年10月実施

上記154施設に対して、1) 詳細な臨床症状、検査所見、治療経過の調査表、2) 遺伝子解析の手続きの依頼、を行った。2010年12月現在、調査表の回収、各施設での倫理委員会での遺伝子解析承認を進めている。倫理委員会の手続きが終了した一部の施設からは患者検体が九大に届きつつある。

3. 遺伝子解析 2010年10月から開始

遺伝子解析は、TRAPSの確定診断、その他の遺伝性発熱疾患との鑑別のために必須である。私どもは九州大学倫理委員会の承認後、九州大学病態修復内科学ならびに生体防御医学研究所において解析を開始した。以下のデータは、健常人359名、TRAPS疑い患者37名についての結果である。今後、各施設での倫理委員会承認手続きの進行に伴い、最終的には上述した263名のTRAPS疑い患者全員に遺伝子解析を行うことを目標としている。

1) TNF受容体1型遺伝子 (TNFRSF1A) 異常

TRAPSの原因遺伝子であるTNF受容体1型遺伝子の全遺伝子領域(エクソン10個)についてシークエンスを行い多型、変異を同定した。

・TRAPSのリスクとなる遺伝子異常 T61Iの同定

37名のTRAPS疑い患者のうち2名(5.4%)にヘテロでT61I(TNF受容体1型の61番目のアミノ酸スレオニンTからイソロイシンIへの置換)を認めた。一方、健常人359名においてはT61Iをより低頻度の8名(2.2%)にヘテロで認めた。日本人ではT61Iを持っている場合にはTRAPS

発症の危険因子となりうるということが明らかになった。解析患者数が今後増加するため、更なる確認を行う。

・その他の多型、変異

欧米人においてR92Q, P46Lは健常人に低頻度で認められ、TRAPSで高頻度に認めることよりTRAPSの発症にかかわる遺伝子異常と考えられている。しかしながら、これらの異常は我々のTRAPS疑い37名、健常人359名の日本人ではまったく認めなかった。その他の変異も認めなかった。

2) 家族性地中海熱の原因遺伝子(MEFV)の異常

周期性発熱性疾患でTRAPSと鑑別が必要となる疾患として、家族性地中海熱(原因遺伝子MEFV)、メバロン酸キナーゼ欠損症(原因遺伝子MVK)の二つがある。これら二つの遺伝子についても疑い患者すべてで検討するが、現在はMEFVについて全遺伝子領域(エクソン10個)の解析が終了している。MVKについては今後解析を進める。

37名のTRAPS疑い患者のうち1名において、変異E84K(原因タンパクPyrinの84番目のアミノ酸、グルタミン酸EがリジンKに置換)を認めた。この変異は本邦のほかの家族性地中海熱患者でも報告されている。この患者は家族性地中海熱であると考えられる。

4. 診断基準(案)

平成22年7月9日、10日に開催された第一回班会議において討議され、一次調査票にも記載したものを、現時点での診断基準(案)として提示する。欧米でも感度、特異度が検証された診断基準はないが、Hullらの案を参考にした(添付資料参照)。今後確定診断症例の蓄積に伴い、平成23年

度に改訂する。

5. 社会への発信

成果発信の場として TRAPS 研究班ホームページを開設した。研究の進展に伴い逐次情報を公開する (<http://www.inai-collagen-disease.com/>)。

D. 考察

本研究の重要な点は、第 1 に TRAPS 疑い患者の有無について国内外で初めてといえる大規模な全国調査を行ったことである。なかでも小児科からの回答率はこの種の調査としては驚異的な 82.9% である。このことは臨床現場で原因不明の周期性発熱疾患の鑑別に苦勞していることを如実に示しており、本研究の意義は大きいことを再確認した。また、TRAPS 疑い患者は全国に約 423 名いることが統計的に推測され、これら患者の的確な診断と治療方針決定が必要であることが明確になった。

次に重要な点は、全国各地から 263 名におよぶ TRAPS 疑い患者を発見したことであり、すべての患者に TRAPS 原因遺伝子 (TNFRSF1A) ならびに TRAPS と鑑別を要する家族性地中海熱、メバロン酸キナーゼ欠損症の原因遺伝子 (MEFV, MVK) の遺伝子異常を網羅的に検討する。この遺伝子解析の結果は周期性発熱患者の原因解明に貢献できる点で意義が大きい。すでに 37 名の TRAPS 疑い患者の解析を始めており、うち 2 名に TNFRSF1A の T61I 異常、1 名に MEFV の E84K 異常を見出した。この結果から推測できることは、TRAPS 疑い患者の中には、少なくとも TRAPS 以外の家族性地中海熱患者などの自己炎症性症候群の患者が紛れ込んでいる可能性がある。

第 3 の重要な点は、遺伝子解析によって確定診断した症例について、並行して行った二次調査における詳細な臨床症状、検査所見、治療反応性などのデータをもとに本邦の TRAPS に診断基準を作成することが可能になった点である。現在二次調査票を集計中であり、遺伝子解析も今後さらに進める。

最後に、鑑別を要する 3 つの周期性発熱疾患について同時に遺伝子解析をすることから、自己炎症症候群全体への診断ならびに治療展開への波及効果、家族性地中海熱、メバロン酸キナーゼ欠損症などほかの厚労省研究奨励分野の研究班との連携、さらには難治性疾患克服研究事業への貢献が期待できる。中・長期的には、私どもの研究班で蓄積したデータや他の自己炎症症候群の研究班データを共有して、日本版自己炎症症候群データベースを作成していきたいと考えている。

E. 結論

全国の 200 床以上の 2,900 施設すべてに調査票を送付し、1,807 施設から回答を得、うち 154 施設に 263 名の TRAPS 疑い患者がいることが判明した。拾い出したこれら患者すべてについて、詳細な臨床所見を問う二次調査を行っている。同時に TRAPS ならびに鑑別すべき 2 疾患 (家族性地中海熱、メバロン酸キナーゼ欠損症) の原因遺伝子解析に着手し複数の遺伝子異常を見出した。今後、遺伝子解析をさらに進めて TRAPS 確定診断例を蓄積し、本邦での TRAPS 診断基準を完成させる。

F. 研究発表

1. 論文発表

研究代表者：堀内孝彦

- Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, et al. Analysis of immune reconstitution after autologous CD34+ stem/progenitor cell transplantation for systemic sclerosis: predominant reconstitution of Th1 CD4+ T cells. *Rheumatology (Oxford)* 2010 Dec 20 [Epub ahead of print]
- Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S, et al. Transmembrane TNF-alpha: structure, function and interaction with anti-TNF agents. *Rheumatology (Oxford)* 49(7):1215-28, 2010
- Kimoto Y, Horiuchi T, Tsukamoto H, et al. Association of killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL5 with systemic lupus erythematosus and accompanying infections. *Rheumatology (Oxford)* 49(7): 1346-53, 2010
- Kiyohara C, Horiuchi T, Miyake Y, et al. Cigarette smoking, TP53 Arg72Pro, TP53BP1 Asp353 Glu and the risk of lung cancer in a Japanese population. *Oncol Rep* 23(5): 1361-8, 2010
- Kiyohara C, Horiuchi T, Takayama K, Nakanishi Y. IL1B rs1143634 polymorphism, cigarette smoking, alcohol use, and lung cancer risk in a Japanese population. *J Thorac Oncol* 5(3): 299-304, 2010
- Nakashima Y, Kondo M, Horiuchi T, et al. Clinical evaluation of tocilizumab for patients with active rheumatoid arthritis refractory to anti-TNF biologics: tocilizumab in combination with methotrexate. *Mod Rheumatol* 20(4): 343-52, 2010
- Uchino A, Tsukamoto H, Nakashima H,

Horiuchi T. Tacrolimus is effective for lupus nephritis patients with persistent proteinuria. *Clin Exp Rheumatol* 28(1): 6-12, 2010

- Kashiwagi Y, Horiuchi T, Harashima C, Harashima S. Marchiafava-Bignami disease-like lesions due to central nervous system lupus. *BMC case reports* 2010; doi10.1136/bcr.08.2010.3269
- 研究分担者：石ヶ坪良明
- Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 42(8): 703-6, 2010
 - Takase K, Ohno S, Ideguchi H, Takeno M, Shirai A, Ishigatsubo Y. Use of musculoskeletal ultrasound in Japan. A survey of practicing rheumatologist. *Mod Rheumatol* 20(4):376-80, 2010
- 研究分担者：楠原浩一
- 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* 160(2) : 246-55, 2010
 - Hoshina T, Kusuhara K, Takimoto T, Saito M, Hara T. Identification of bacterial pathogens in pediatric community-acquired lower respiratory tract infection using a simplified procedure of sputum sampling and examination: comparison between hospitalized children with and without underlying diseases. *Eur J Clin Microbiol*

Infect Dis 29(5): 519-25, 2010

・ Ishizaki Y, Yukaya N, Kusuhara K, et al. *PDI* as a common candidate susceptibility gene of subacute sclerosing panencephalitis. *Hum Genet* 127(4): 411-9, 2010

研究分担者：武井修治

・ 武井修治：若年性関節炎へのアプローチ。リウマチ病学テキスト。pp48-50, 編集：日本リウマチ学会生涯教育委員会、日本リウマチ財団教育研修委員会, 診断と治療社, 東京, 2010

・ 武井修治：若年性特発性関節炎(JIA)。リウマチ診療の要点と盲点。pp68-70, 監修：岩本英幸、編集：木村友厚。文光堂, 東京, 2010

・ 武井修治：関節リウマチ(第2版)ー若年性特発性関節炎。日本臨床 68(増5): 550-55, 2010
研究分担者：蓑田清次

・ Kamata Y, Iwamoto M, Muroi K, Minota S. Repeated local implantation of autologous peripheral blood mononuclear cells for the treatment of ischemic digits in patients with connective tissue diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2010 Dec 15 [Epub ahead of print].

・ Onishi S, Yoshio T, Nagashima T, Minota S. Decrease in the levels of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in Japanese patients with rheumatoid arthritis who responded to anti-tumor necrosis factor- α . *Mod Rheumatol* 20(5): 528-30, 2010

・ Nagashima T, Minota S. Tocilizumab for rheumatoid arthritis with chronic hepatitis B virus infection without antiviral therapy. *J Rheumatol* 37(5): 1066, 2010

・ Nagashima T, Minota S. Is polymyositis of dermatomyositis in patients with rheumatoid arthritis induced or unveiled by anti-tumor

necrosis factor treatment? *Clin Rheumatol* 29(7): 819-20, 2010

・ Nagashima T, Minota S. Autoimmune hepatitis and adult-onset Still's disease: can they coexist? *Clin Rheumatol* 29(4): 449-50, 2010

研究分担者：井田弘明

・ 井田弘明：TRAPSの病態から炎症を考える 細胞 42(9): 367-78, 2010

・ 井田弘明：自己炎症症候群 カレントセラピー 28(10): 970-1, 2010

・ Tamai M, Kawakami A, Iwamoto N, Kawashiri SY, Fujikawa K, Aramaki T, Kita J, Okada A, Koga T, Ida H, Origuchi T, Aoyagi K, Yetani M, Eguchi K. Comparative study of the detection of joint injury in early-stage rheumatoid arthritis by MRI or physical examination. *Arthritis Care Res* 2010 Nov 15 [Epub ahead of print].

・ Kawashiri SY, Kawakami A, Ueki Y, Imazato T, Iwamoto N, Fujikawa K, Aramaki T, Tamai M, Nakamura H, origuchi T, Ida H, Eguchi K. Decrement of serum COMP in RA patients achieving remission after 6 months of etanercept treatment: comparison with CRP, IgM-RF, MMP-3, and anti-CCP Ab. *Joint Bone Spine* 77(5): 418-20, 2010

・ Hida A, Imaizumi M, Sera N, Akahoshi M, Soda M, Maeda R, Ida H, Kawakami A, Eguchi K. Association of human T lymphotropic virus type 1 with Sjogren syndrome. *Ann Rheum Dis* 69(11): 2056-7, 2010

・ Iwamaoto N, Kawakami A, Arima K, Nakamura H, Kawashiri SY, Tamai M, Ichinose K, Ida H, Origuchi T, Eguchi K. Regulation of

disease susceptibility and mononuclear cell infiltration into the labial salivary glands of Sjogren's syndrome by MCP-1. *Rheumatology (Oxford)* 49(8): 1472-8, 2010

研究分担者：高橋裕樹

・ Yamamoto Y, Takahashi H, Suzuki C, Tabeya T, Ohara M, Naishiro Y, Yamamoto H, Imai K, Shinomura Y. Analysis of serum IgG subclasses in Churg-Strauss syndrome- the meaning of elevated serum levels of IgG4. *Intern Med* 49(14): 1365-70, 2010

・ Takahashi H, Yamamoto M, Suzuki C, Naishiro Y, Shinomura Y, Imai K. The birthday of a new syndrome: IgG4-related diseases constitute a clinical entity. *Autoimmunity Rev* 9(9): 591-4, 2010

研究分担者：藤井隆夫

・ Nakashima R, Imura Y, Kobayashi S, Yukawa N, Fujii T et al. The RIG-I-like receptor IFIH1/MDA5 is a dermatomyositis-specific autoantigen identified by the anti-CADM-140 antibody. *Rheumatology (Oxford)* 49(3): 433-40, 2010

・ Sato T, Fujii T, Yokoyama T, et al. Anti-U1 RNP antibodies in cerebrospinal fluid are associated with central neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus and mixed connective tissue disease. *Arthritis Rheum* 62(12): 3730-40, 2010

研究分担者：田平知子

・ Kukita Y, Yahara K, Tahira T, Higasa K, Sonoda M, Yamamoto K, Kato K, Wake N, Hayashi K. A definitive haplotype map as determined by genotyping duplicated haploid genomes finds a predominant haplotype preference at copy number variation events.

Am J Hum Genet 86(6): 918-28, 2010

・ Umeno J, Matsumoto T, Esaki M, Tahira T, et al. Impact of group IVA cytosolic phospholipase A2 gene polymorphisms on phenotypic features of patients with familial adenomatous polyposis. *Int J Colorectal Dis* 25(3): 293-301, 2010

・ Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, Tawara A, Hayashi K, Tahira T. Mutation in TSPAN12 gene in Japanese patients with familial exudative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* in press.

2. 学会発表

・ 堀内孝彦、石ヶ坪良明、井田弘明、楠原浩一、高橋裕樹、武井修治、田平知子、藤井隆夫、養田清次、鷲尾昌一、TNF 受容体関連周期性症候群 (Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: TRAPS) の全国実態調査 第 108 回日本内科学会総会 2011 年 4 月、東京 (演題採択済み)

・ 堀内孝彦、抗 TNF 製剤の作用機序：共通点と相違点、そして臨床効果との関連、第 31 回日本炎症・再生医学会総会 2010 年 8 月、東京

・ 堀内孝彦、抗 TNF 製剤の作用機序：その共通点と相違点、第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2010 年 4 月、神戸

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

分担研究報告

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

不明熱における自己炎症性症候群の遺伝子変異検索

分担研究者 石ヶ坪良明(横浜市立大学病態免疫制御内科学)
寒川整(横浜市立大学病態免疫制御内科学)
上田敦久(横浜市立大学病態免疫制御内科学)

研究要旨

当施設へ不明熱ないし自己炎症性症候群疑いで紹介された成人患者について、自己炎症性症候群関連遺伝子の変異を検索した。また不全型ベーチェット病患者の中で発熱を高頻度に起こす患者についても同様の遺伝子変異を検索した。その結果、遺伝子変異・臨床症状から家族性地中海熱と診断できた症例を4例認めた。その一方でTNF受容体関連周期性症候群、高IgD症候群、CINCA症候群、Muckle-Wells症候群、家族性寒冷自己炎症性症候群の診断に至った症例はなかった。

A. 研究目的

不明熱の基準を満たす成人患者のおよそ9-50%が確定診断に至らないとされ、報告によっては確定診断されない症例は51%に達する(Bleeker-Rovers CP et al. Medicine 2007)。これは同時に多くの不明熱症例で正しい診断名に基づいた適切な治療が行われないということの意味している。こういった不明熱症例の中には確定診断に至らないまま、炎症を沈静化させるべく大量のステロイドや免疫抑制薬による加療を受けているものもある。

自己炎症性症候群は1999年にKastner、O'Shea、McDermottらにより提唱された疾患群であり、突如の発熱発作とそれに伴う漿膜炎や関節炎などの随伴症状を特徴とする。自己炎症性症候群には家族性地中海熱、TNF受容体関連周期性症候群、高IgD症候群、CINCA症候群、Muckle-Wells症候群、家族性寒冷自己炎症性症候群などがあり、いずれも遺伝子の変異が原因である。これら自己炎症性症候群は既存のステロイドや免疫抑制薬による治療に対して抵抗性であることが多く、tumor necrosis factor α (TNF α)やinterleukin-1 β (IL-1 β)とい

った炎症性サイトカインを阻害する生物学的製剤が奏功する。自己炎症性症候群は国内での症例報告は散見されるものの希少な疾患であり、不明熱の鑑別疾患として挙げられないことも多い。そのために自己炎症性症候群であるにも関わらず、確定診断に至らず見逃されている可能性がある。

本研究では不明熱症例の中に潜在する自己炎症性症候群の実態を把握すべく、確定診断に至らない不明熱症例に対して、自己炎症性症候群の原因遺伝子の変異を検索を行った。

また自己炎症性症候群はベーチェット病との関連性も報告されており(Gul A. Curr Drug Targets Inflamm Allergy 2005)、実際にベーチェット病の特異的所見とされる陰部潰瘍を呈する自己炎症性症候群疾患も報告されている。このため、当施設でベーチェット病疑いとされている症例からベーチェット病としては症状が非典型的であり、さらに発熱発作を繰り返すような症例に関しても自己炎症性症候群の遺伝子変異を検索した。

B. 研究方法

横浜市立大学附属病院リウマチ血液感染症

内科に紹介された不明熱(Petersdorfらの定義を満たさないものも含む)のうち、以下の条件を満たす症例について家族性地中海熱の原因遺伝子である MEFV 遺伝子や TNF 受容体関連周期性症候群の原因遺伝子である

TNFRSF1A 遺伝子の遺伝子変異を検索した。

- ①経過から悪性腫瘍・感染症が否定的
- ②発熱発作を繰り返す
- ③既知の膠原病疾患に合致しない、もしくは不全型ベーチェット病と診断されているが、症状が非典型的。

また必要に応じて CINCA 症候群らの原因遺伝子である CIAS1、高 IgD 症候群の原因遺伝子 MVK の変異についても追加検索を行った。実際に対象症例に関しては以下の遺伝子領域を PCR により増幅し、シーケンシングにより遺伝子配列を解析した。

MEFV 遺伝子 exon2, 10

TNFRSF1A 遺伝子 exon2-4, 6-10

MVK 遺伝子 exon2-11

CIAS1 遺伝子 exon3

C. 研究結果

当施設を受診した不明熱症例に対し研究方法のとおり遺伝子変異の検索を行った。MEFV 遺伝子変異を調査した症例は家族性地中海熱疑い症例が11例、ベーチェット病が3例、その他不明熱症例が8例であり、いずれの場合も多くの変異(多型)を認めた(詳細は表1参照)。TNFRSF1A遺伝子変異を調べた症例は9例であり、うち1例(症例11)は臨床症状からTNF受容体関連周期性発熱症候群と診断しエタネルセプト投与中の患者であったが、全症例で変異を認めなかった。CIAS1遺伝子は9例で調べたが、A244A/A244Aとアミノ酸配列に影響を与えないものであった。MVK遺伝子に関しては7例を調査した結果、1例にD170D/-のアミノ酸配列に影響を与えない変異を認めた(表2参照)。

今回の遺伝子変異の検索では家族性地中海熱の4例を確定診断することができたが、その他自己炎症性症候群の確定診断に至った症例はなかった。

D. 考察

今回の遺伝子検査の中で自己炎症性症候群と診断された症例は家族制地中海熱の4例のみであり、TNF受容体関連周期性症候群と遺伝子から診断できた症例は認めなかった。

TNF受容体関連周期性症候群の本邦報告例は10例程度となっている。一方で家族制地中海熱は150例程度の症例が確認されており、今回の結果は日本における自己炎症性症候群の各疾患の有病率を反映しているものと考えられる。

興味深いことは幼少期から発熱発作を起こし、さらに家族歴を認めるような症例でも自己炎症性症候群の遺伝子変異を認めない症例があったことである。近年になってインターロイキン1受容体欠損症が新たな自己炎症性症候群として報告されたことからわかるように、今回の検索範囲では遺伝子変異を認めない症例でもいずれは何らかの遺伝子変異が発見される可能性がある。今後も原因遺伝子の検索を進めていくことで自己炎症性症候群として分類される疾患が増えていくことが予想される。今回の遺伝子検査は特に変異を認めることが多いexonを対象に行ったが、検索する遺伝子領域や遺伝子の種類を増やすことで何らかの遺伝子異常が発見されていく可能性がある。

当施設においては臨床症状からTNF受容体関連周期性症候群と診断し、エタネルセプトによる治療を行っている症例が1例ある。この症例についても遺伝子解析を行ったが、シーケンスをした範囲でTNFRSF1A遺伝子に変異は認めなかった。しかし、近年ではTNFRSF1A遺伝子に変異を認めないTNF受容体関連周期性症候群も報告されている。おそらくこれらの

症例では TNF 受容体以外の、機能的に関連したタンパクに異常があり、結果的に似通った臨床症状を呈していると考えられる。今後は TNF 受容体関連周期性症候群における TNF 受容体の役割を解析することで、発症メカニズムのみならず同様の臨床症状を呈する類似疾患の発見も可能になるだろう。

E. 結論

今回の遺伝子変異の検索では家族性地中海熱以外の自己炎症性症候群の診断には至らなかったが、今後検索範囲を広げることで新たな変異を見つけることができる可能性はある。

E. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

学術論文

英文原著

1. Haruko Ideguchi, Akiko Suda, Mitsuhiro Takeno, Atsuhisa Ueda, Shigeru Ohno, Yoshiaki Ishigatsubo. Chronological manifestations in Japanese patients with Behçet's disease: Retrospective cohort study in two university hospitals. *Medicine*. 2011 Mar;90(2):125-32.
2. Mizuki N, Meguro A, Ota M, Ohno S, Shiota T, Kawagoe T, Ito N, Kera J, Okada E, Yatsu K, Song YW, Lee EB, Kitaichi N, Namba K, Horie Y, Takeno M, Sugita S, Mochizuki M, Bahram S, Ishigatsubo Y, Inoko H. Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet*. 2010 Aug;42(8):703-6.
3. Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Kirino Y, Ihata A, Ueda A, Ohno S, Baba Y, Kuroiwa Y, Ishigatsubo Y. Neurological manifestations of Behçet's disease in Japan: a study of 54 patients. *J Neurol*. 2010 Feb 3.

和文総説

1. 石ヶ坪良明, 今日の治療指針 2011 年版, 私はこう治療している. ベーチェット病 (内科). 医学書院 Page746-748(2011.01)
2. 石ヶ坪良明. 【膠原病 新たな治療戦略】 膠原病類縁疾患 ベーチェット病. 臨床と研究 (0021-4965)87 巻 9 号 Page1231-1236(2010.09)
3. 岳野光洋, 石ヶ坪良明. 【関節リウマチ(第2版) 寛解を目指す治療の新時代】 関節リウマチの類縁疾患とその鑑別診断 Behçet 病. 日本臨床(0047-1852)68 巻増刊号 5 関節リウマチ Page602-605(2010.05)

2. 学会発表

国際学会

1. Uehara T, Takeno M, Ohmura K, Suda A, Ihata A, Ueda A, Asukada Y, Shibuya E, Mizuki N, Ishigatsubo Y. Treatment with Infliximab for Uveitis in Patients with Behçet's Disease. EULAR, Roma, Italy, June 2010
2. Suda A, Ideguchi H, Takeno M, Nagaoka S, Kurosawa M, Uehara R, Nagai M, Ishigatsubo Y. Vascular manifestations of Behçet's disease in Japan: a survey of 98 patients. 13th International Conference on Behçet's disease. London, UK, July, 2010
3. Uehara T, Takeno M, Hama M, Omura K, Suda A, Ihata A, Ueda A, Mizuki N, Ishigatsubo Y. Infliximab treatment for uveitis in patients with Behçet's disease. 13th International Conference on Behçet's disease. London, UK, July, 2010
4. Takeno M, Nagahori M, Kurosawa M, Uehara R, Nagai M, Ishigatsubo Y. Infliximab therapy for intestinal Behçet's disease in Japan. 13th International Conference on Behçet's disease. London, UK, July, 2010
5. Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Ohno S, Ishigatsubo Y. Vascular manifestations of Behçet's disease in Japan: a survey of two university hospitals. 13th International Conference on Behçet's disease. London, UK, July, 2010
6. Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Ohno S, Ishigatsubo Y. Chronological manifestations in Japanese patients with Behçet's disease: Retrospective cohort study in two university hospitals 13th International Conference on Behçet's disease. London, UK, July, 2010
7. Takeno M. Immunological features of Behçet's disease

American College of Rheumatology 75th ACR, Atlanta GA, Nov, 2010

8. Watanabe R, Takeno M, Nagahori M, Kurosawa M, Uehara R, Nagai M, Ishigatsubo Y. Infliximab therapy is beneficial for intestinal Behcet's disease in Japan. American College of Rheumatology 75th ACR, Atlanta GA, Nov, 2009
9. Takeno M, Miyazaki T, Kirino Y, Samukawa S, Hama M, Ishigatsubo Y. Bach1 regulates heme oxygenase-1 expression of human monocytes in response to LPS: implication in Behcet's disease American College of Rheumatology 75th ACR, Atlanta GA, Nov, 2010

国内学会

1. 石ヶ坪良明. Behcet 病 2010. 第 22 回中之島リウマチセミナー. 大阪. 2010 年 12 月
2. 岳野光洋、石ヶ坪良明. 腸管ベーチェット病に対するインフリキシマブ治療の実態. 第 54 回 日本リウマチ学会学術総会. 神戸、2010 年 4 月

表1

症例		遺伝子変異
1	女性 10代から発熱・腹痛。	M694I/M694I
2	女性 10代から発熱・胸痛。多発性硬化症合併	L110P-E148Q-M694I/L110P-E148Q
3	男性 ベーチェット病、発熱発作を繰り返す	E148Q/-
4	男性 発熱発作を繰り返す。コルヒチン有効。	M694I/-
5	女性 発熱・腹痛	M694I/M694I
6	女性 症例2の母親。無症状	L110P-E148Q/-
7	女性 発熱、肝障害、関節痛	E148Q/-
8	女性 ベーチェット病。発熱発作を繰り返す。	E148Q/-
9	男性 症例2の父親。幼少期から発熱と胸痛あり。	L110P-E148Q-M694I/E148Q
10	女性 症例2の姉。無症状	L110P-E148Q/E148Q
11	女性 ベーチェット病。発熱発作を繰り返す。	-
12	女性 月に一度発熱。慢性扁桃腺炎と診断。	-
13	男性 症例1の父親。同族婚。	E148Q/- M694I/-
14	女性 症例1の母親。同族婚。	M694I/-

表2

症例	遺伝子変異			
	MEFV	TNFRSF1A	CIAS1	MVK
1 女性 10代から発熱	L110P/-	なし	なし	なし
2 女性 37°Cが持続	G138G/ E148/-	なし	なし	D170D/-
3 女性 10代から発熱。ステロイド効果不十分、免疫抑制薬不応	なし	なし	なし	なし
4 女性 37°Cが持続	なし	なし	A224A/A244A	
5 男性 MDS、不明熱	L110P/ E148Q/-	なし	なし	なし
6 女性 幼少児より発熱、筋痛	なし	なし	なし	なし
7 女性 発熱、頭痛、筋痛、嘔気	E148Q/-	なし	なし	なし
8 男性 37°Cが持続	なし	なし		
9 男性 寒冷蕁麻疹 (父)			なし	
10 男性 寒冷蕁麻疹 (息子)			なし	
11 男性 発熱、筋痛、紅斑		なし		

PFAPA 症候群の臨床的検討

研究分担者： 楠原 浩一 産業医科大学小児科教授

研究要旨

PFAPA(periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis and adenitis)症候群は非遺伝性の自己炎症疾患であり、特に小児期において TRAPS との鑑別が重要な疾患である。今回、本症患者 16 例を集積し、臨床的検討を行った。臨床症状では、米国のデータと比較して、発症年齢がやや低く、発熱期間がやや長く、主要 3 症状の出現頻度が高い傾向がみられた。シメチジンで発作の完全消失は得られないものの、多くの症例で発作の軽減がみられていた。初期治療あるいはステロイド使用で発作間隔の短縮や次回発作の増悪がみられる場合の本症の治療としてシメチジンは依然考慮すべきと考えられた。

A.研究目的

PFAPA 症候群は、周期性発熱、アフタ性口内炎、咽頭炎、頸部リンパ節炎を主症状とする非遺伝性の自己炎症疾患である。わが国では TRAPS を含めた周期性発熱症候群の中で最も頻度が高いと考えられており、特に小児期において TRAPS との鑑別が重要な疾患である。今回、本邦における PFAPA 症候群の臨床像を明らかにするために、本症患者 16 例を集積し検討を行った。

B.研究方法

対象は 2010 年 6 月までに産業医科大学病院小児科または九州大学病院小児科を受診し PFAPA 症候群と診断された 16 例である。全例、Thomas ら(*J Pediatr* 1999)の診断基準を満たし、Galsini diagnostic score (Gattorno et al. *Arthritis Rheum* 2008)が 1.32 未満であった。Galsini diagnostic score は、最近 PFAPA 症候群と遺伝性周期性発熱症候群とを鑑別するために提唱されたスコアリングシステムであり、発症月齢や症状、家族歴の有

無から求められ、1.32 未満では PFAPA 症候群の可能性が高いとされている。

(倫理面への配慮)

本研究は、研究者が所属する医療機関における臨床データの解析であり、倫理委員会の承認は要しないと考えられる。

C.研究結果

図 1 に発症年齢と性別の分布を示した。発症年齢は全例 4 歳以下であり、平均発症年齢は 2.0 歳であった。2010 年に米国の Feder ら(*Acta Paediatr* 2010)が報告した PFAPA 症候群 105 例の検討では、平均発症年齢は 3.3 歳であり、今回の検討では米国の報告よりも発症年齢がやや低い結果であった。男女比は今回の検討では 1:1、米国の報告では 3:2 であった。

発熱期間は、毎回 5 日以内が 25%、毎回 5 日以上が 38%、3~7 日の範囲内が 38%であった(図 2)。平均発熱期間は 5.1 日であり、米国の報告よりやや長い傾向がみられた。発熱間隔は、毎回 4 週以内が 38%、毎回 4 週以上

が38%、3~7週の範囲内が25%であった(図3)。平均発熱間隔は4.4週間と、米国の報告とほぼ同様であった。

図4に主要3症状の出現頻度を示した。今回の検討では、アフタ性口内炎は他の2つの症状と比較して出現頻度が低く、50%以上の発作で認めていたのは半数のみであった。しかし、米国の報告と比較すると高頻度であった。また、咽頭炎、頸部リンパ節炎は全例で50%以上の発作で認められており、これらも米国の報告より高頻度であった。

図5に16例のうち10例で使用したシメチジンの効果を示した。発作がほとんどみられなくなった「有効」は20%、発作の頻度や程度が軽減した「やや有効」は70%であり、発作の完全消失は得られないものの、多くの症例でその頻度や程度が軽減していた。1年以上経過観察可能であった12例の現在の状態を図6に示した。平均年齢は8.1歳、平均観察期間は3.3年であった。治癒は17%、発作がほとんどみられない「軽快」は25%、発作の頻度や程度が軽減した「やや軽快」は50%であり、多くの症例で発作が軽減もしくは消失していた。治癒例は2例あり、1例は1歳6ヶ月で発症して12歳時に治癒し、もう1例は乳児期に発症して8歳時に治癒した。

D. 考察

PFAPA症候群の病態はまだ明らかでなく、治療法も確立していない。今回のシリーズではシメチジンを中心とした治療を行った。シメチジンで発作の完全消失は得られないものの、多くの症例で発作の軽減がみられた。本症の治療として、発作時のステロイド頓用や発作予防としての扁桃摘出術も行われている。しかし、本症は自然治癒する疾患であることや、ステロイド使用では発作間隔が短縮したり次の発作の増悪がおこる場合があることから、シメチジンは、初期治療として、あるいはステロイドでうまく管理できない場合に、

依然考慮すべきであると考えられた。

E. 結論

今回解析したPFAPA症候群16例は、米国のデータと比較して、発症年齢がやや低く、発熱期間がやや長く、3症状の出現頻度が高い傾向がみられた。シメチジンで発作の完全消失は得られないものの、多くの症例で発作の軽減がみられていた。初期治療あるいはステロイド使用で発作間隔の短縮や次回発作の増悪がみられる場合の治療としてシメチジンは依然考慮すべきと考えられる。

F. 研究発表 (2010/4/1~2011/3/31 発表)

1. 論文発表

1. 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 160(2):246-55, 2010
2. Ishizaki Y, Yukaya N, Kusuhara K, Kira R, Torisu H, Ihara K, Sakai Y, Sanefuji M, Pipo-Deveza JR, Silao CL, Sanchez BC, Lukban MB, Salonga AM, Hara T. *PDI* as a common candidate susceptibility gene of subacute sclerosing panencephalitis. Hum Genet 127:411-9, 2010
3. Hoshina T, Kusuhara K, Takimoto T, Saito M, Hara T. Identification of bacterial pathogens in pediatric community-acquired lower respiratory tract infection using a simplified procedure of sputum sampling and examination: comparison between hospitalized children with and without underlying diseases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 29(5):519-25, 2010
4. Muneuchi J, Ishimura M, Takada H, Hoshina T, Utsunomiya R, Ikeda K, Yamaguchi K, Ohga S, Kusuhara K, Hara T. Incomplete Kawasaki disease in a patient