

201024253A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

NOD2変異を基盤とするブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに

対する診療基盤の開発に関する研究

平成 22 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神戸 直智

平成 23 (2011) 年 4 月

目 次

I.	総括研究報告	
	NOD2 変異を基盤とするブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する 診療基盤の開発に関する研究	4
	神戸 直智	
II.	分担研究報告	
1.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する 罹患者数把握のための全国調査に関する研究	12
	松江 弘之	
2.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスにおける NOD2 変異について	15
	西小森 隆太	
3.	単一施設で長期経過観察した若年発症サルコイドーシスの臨床経過からみた 診断基準作成のための提案	18
	武井 修治	
4.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス家族発症例における 超音波検査を用いた関節病変の病態解析	24
	池田 啓	
5.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する 責任遺伝子の分子機能評価に関する研究	29
	金澤 伸雄	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	38
IV.	巻末添付資料	
	1) 一次アンケート施行時の同封資料 (疾患説明)	
	2) 診断基準案	
	3) 一次アンケート回収施設一覧	

総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

NOD2 変異を基盤とするブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する
診療基盤の開発に関する研究

研究代表者 神戸直智 千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 准教授

研究要旨 ブラウ症候群および若年発症サルコイドーシス（EOS）は、NOD2 遺伝子の変異を背景とする肉芽腫性疾患である。500 床以上の病院を対象にアンケートを送付し、1268 通の返信を回収し（回収率：41.0%）、診断確定例 28 例、疑い症例 12 例、という結果を得た。遺伝子解析として、28 症例の遺伝子型を集計し、ミスセンス変異のみでなく、6 塩基欠失の症例を同定した。同定した変異 NOD2 は、6 塩基欠失を含め、いずれもリガンド非依存的な NF- κ B 活性化能をもち、病因としての重要性が確認された。また鹿児島大学での 7 症例の臨床症状をまとめ、経過中に全例でみられた臨床所見は、1) 関節炎、2) 手背・足背の囊腫状腫脹、3) 可動域制限を伴わない指趾中節関節の屈曲、4) 自己抗体陰性であり、関節炎は EOS の中核病態と思われた。全例が前医で JIA と診断されており、JIA との鑑別の重要性が示唆されたが、手背・足背の囊腫状腫脹と経過とともに顕在化する可動性を残した指趾中節関節の屈曲拘縮は、EOS に特有な症状であり、JIA との鑑別に有用と思われた。ぶどう膜炎、弛張熱、皮疹がある例は、EOS の可能性が高いことが示唆された。病態解析の試みとして、NOD2 変異を導入したヒト単球系細胞株 THP-1 細胞を樹立した。無刺激では変異の有無による違いを認めなかったが、分化誘導因子である PMA 刺激により、変異細胞に特異的に接着性が亢進し、ICAM-1 の持続的発現と PDGF-B mRNA の一過性発現を伴うことを見出した。EOS 患者病変部皮膚の染色でも、肉芽腫内の NOD2 陽性多核巨細胞に ICAM-1 と PDGF-B が発現することを認めた。病勢把握の試みとしては、関節病変を超音波検査で経時的に評価し、炎症の主座が腱鞘滑膜であること、炎症が自然寛解し得ること、しかし長期的な経過の結果、関節破壊を来し得ることが示された。

本症の臨床像は特徴的であるため、医療関係者等の関心を高めることができれば、適切な医学的対応が可能となり、生活に支障を来す重度障害の予防ができる。このため、疾患の紹介と情報提供を今後も継続して行う必要があると考えた。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属機関における職名

松江弘之・千葉大学・大学院医学研究院・皮膚科学・教授

池田 啓・千葉大学・医学部附属病院・アレルギー膠原病内科・助教

武井修治・鹿児島大学・医学部・保健学科・教授

西小森隆太・京都大学・大学院医学研究

科・発達小児科学・准教授
金澤伸雄・和歌山県立医科大学・医学部・
皮膚科・講師

A. 研究目的

ブラウ症候群 (Blau syndrome) および若年発症サルコイドーシス (early-onset sarcoidosis) は、NOD2 遺伝子の変異を背景とする肉芽腫性疾患である。原因遺伝子として同定された NOD2 は、細胞内でパターン認識に関わる NLR 分子群として自然免疫での役割が注目を集める分子であり、機能消失性変異が消化管に肉芽腫を来すクローン病の発症に関連すると注目された。一方、家族性に皮膚、関節、眼に肉芽腫を来すブラウ症候群で NOD2 の機能獲得性変異が報告され (Miceli-Richard, et al. *Nat Genet* 2001), これを契機として我々は、小児期発症のサルコイドーシスの中で、肺病変を欠き関節症状を来す一群はこのブラウ症候群に病態が近いと考えて国内症例を収集し、NOD2 の機能獲得性変異を世界に先駆けて同定した (Kanazawa, et al. *Blood* 2005)。今日までに国内で 30 例ほどの症例が集積されたが (Okafuji, et al. *Arthritis Rheum* 2009), なぜ NOD2 の活性化が肉芽腫を形成させるかは明らかでない。確立した治療法はないものの、症例を蓄積する過程で我々は、ステロイド大量療法によって眼症状の進行を阻止できると考えた。しかし、疾患概念が浸透していないため、多くは JIA やアトピー性皮膚炎、一般のサルコイドーシスと診断されており、治療介入が後れ、病勢を進行させている印象を抱いた。未だ適切に診断されていない症例が存在することも示唆された。

この様な実態を踏まえて、1) 日本での実態調査を行うとともに、疾患概念の浸透を図ることを目的とし、収集した患者の臨床症状

から NOD2 の活性化に関わる病態を明確化する。また 2) 分子生物学的手法を用いて明らかにされてきた NOD2 の活性化に伴う NF- κ B 転写の亢進が、患者においても確認できるのかを検討し、この経路に関わる遺伝子の発現および炎症性サイトカインを検証する。さらに 3) 関節エコーによる観察を蓄積し、本症の治療介入時の評価として有用であるかを検討する、ことを主な目的として掲げた。

B. 研究方法

1) 日本における患者実態調査を行うとともに、疾患概念の浸透を図る。

本疾患は、家族歴の有無にかかわらず、4 歳以前に発症し、皮膚、関節、眼を主として冒し、組織学的に肉芽腫を呈するという明確な特徴を有する。他の疾患名で報告されている症例を含めて症例を文献で検索し症例を集積すると、上記の臨床的クライテリアを満たすほぼ全例から NOD2 の恒常活性変異体が同定された (Kanazawa et al, *Blood* 2005)。しかしながら、多くの症例は当初別の疾患として小児科、皮膚科、眼科およびリウマチ科などで経過観察されていたことから、依然として診断の付かない症例が疾患概念が浸透していないために埋もれている可能性がある。病勢の進行に伴い失明や関節拘縮を来すことから、症例の大半は主要施設において経過観察されていると予想されるため、全国の主要診療施設 (小児科、皮膚科、眼科、内科) に対して 2 段階方式のアンケート調査を行い、本症の疾患概念の浸透と疑診例の発掘を図る。

また、幸いにも臨床症状は特徴的であることから、ホームページに臨床症状を掲示し検索エンジンにヒットする様に配慮し、情報を

求める患者自身の啓蒙を図る。

2) 患者末梢血を用いて、NOD2 の活性化に伴う NF- κ B 転写の亢進を確認するとともに、関連遺伝子の発現および炎症性サイトカインの発現を検証する。

NOD2 変異が同定された患者から、インフォームド・コンセントを得た後に末梢血を採取し、NOD2 を発現する CD14 陽性単球における NF- κ B の活性化を評価する。また、NF- κ B 転写がその発現に関わる遺伝子を検索する。関連する炎症性サイトカインに関しては、ELISA およびフローサイト・メトリー法にて検討し、治療のターゲットとなる病態を検索する。

同時に、同定した NOD2 変異を細胞株へと遺伝子導入し、患者検体と平行して細胞株レベルでも検索が進む様に系を立ち上げる。

3) 関節エコーを用いた病勢評価の確立を目指す。

千葉大学の症例は、我々が収集した症例の中では当初関節所見を欠くとして報告されていた(藤田, 他: 日小皮会誌 1990) が、関節エコーを行うことで特徴的とされる腱鞘炎の所見を確認した。また、関節エコーにより冒される病変が明瞭化でき、非侵襲性に病勢を評価できる可能性が示唆された。このため、NOD2 変異が同定された症例において、関節エコーを行うことで、将来の治療法確立の際に病勢評価として用いるに足るものであるかを検討する。

(倫理への配慮)

患者を対象とした検討に際しては、人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除や説明と同意(インフォームド・コンセント)を行い、関連する法令に遵守して進める。

遺伝子解析に際しては、千葉大学および京

都大学での生命倫理委員会の承認を得て既に解析が行われていたが、当研究においても、解析依頼に応じて研究計画に準じて解析が行われた。

臨床検体(患者末梢血)を扱う研究の実施に当たっても千葉大学の生命倫理委員会に申請を行い、その承認を得た(受付番号 1007, 課題名「NOD2 変異を基盤とするブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する末梢血の網羅的遺伝子発現解析による診療基盤の開発」)が、さらに本研究の分担者およびそれぞれが属する診療機関を研究組織に加える形で計画書変更の申請を行い、10月29日付けで承認された。

また、本研究での全国調査を通じて存在が明らかとなった診断確定例および疑い例に対して、詳細な臨床情報を聴取するための2次アンケートに際して、文部科学省および厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針(平成19年8月16日全部改訂)」に従って計画の審査をうけ、千葉大学倫理審査の承認を受けた(受付番号1150)。

実際の検討に際しては、各倫理指針等に基づき、あらかじめ研究の内容やかかる費用等について患者および家族に説明、または情報公開を行った上で、必要に応じて生命倫理委員会の定める文章等により同意を得て実施している。

C. 研究結果

1) 患者実態調査と疾患概念の浸透

8月に開催された第31回日本炎症・再生医学会とそれに引き続いて行われた自己炎症症候群研究会、9月にオランダにて開催された第6回国際自己炎症症候群研究会、およびその後のメールのやりとりから、班員と情報

交換を行い、巻末資料1のように臨床像をまとめるとともに、1次アンケートに際して、疑い症例の例数を尋ねるのではなく、「以下のような症状を示す患者さんはおられませんか？」と具体例を挙げて尋ねることで、疾患概念の浸透とともに他の疾患として扱われている症例の掘り起こしを図った。これは、これまで我々が収集してきた症例の多くが、本症の認知度の低さから、当初はアトピー性皮膚炎や様々な皮膚肉芽種性疾患、若年性特発性関節リウマチや関節リウマチとして経過観察されていたためである。

実際に、全国の500床以上の病院（内科、小児科、整形外科、皮膚科）を対象に3137通のアンケートを送付し、該当科なしと返信された70通を除いて1268通の返信を回収し（回収率：41.0%）、診断確定例28例、疑い症例（上記の「以下のような症状を示す患者さん」に相当する症例）12例、という結果を得た（2011年3月31日現在）。

アンケートに平行して、自らが経験した症例を基に班員同士の情報交換から、巻末資料2のように診断基準（暫定案）を作成した。また、2次アンケートとして診断確定例および疑い例ありと回答した28施設に対して行う臨床症状聞き取りのための項目を決定した。

また、今回のアンケートは500床以上の病院を対象としたことから、これに漏れた症例への情報提供を意図して、ホームページ（<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/dermatology/eos.html>）に臨床症状を掲示した。

2) 患者検体でのNOD2の活性化の評価

班員が診察している症例においては、診察に支障を生じない範囲で残血清を保存している。

また、千葉大の症例に関しては、倫理委員

会での承認後、NOD2遺伝子を発現する末梢血CD14陽性単球を単離し、発現する遺伝子のプロファイリングを行った。いくつかの興味深い遺伝子の上昇は認められたものの、2例の解析では統計学的な評価は困難との助言（研究協力機関 かずさDNA研究所）を得たため、鹿児島大や京都大などで班員が経過観察し、同意が得られた症例を対象に、検討を予定している。

ヒト単球系細胞株THP-1細胞へNOD2変異を導入した細胞を樹立した。班員である金澤伸雄を中心に解析が進められ、無刺激では変異の有無による違いを認めなかったが、分化誘導因子であるPMA刺激により、変異細胞に特異的に接着性が亢進し、ICAM-1の持続的発現とPDGF-B mRNAの一過性発現を伴うことを見出した。EOS患者病変部皮膚の染色でも、肉芽腫内のNOD2陽性多核巨細胞にICAM-1とPDGF-Bが発現することを認めた。

3) 関節エコー

千葉大の症例（2例）を対象に、月に一度の外來診察にあわせて、関節エコーの観察を継続し、知見を集積中である。

今後は、2次アンケートの実施に際して、協力頂ける症例を募り、他の症例においても関節エコーによる評価を行う予定である。

D. 考察

本症は、臨床情報の集積から、大量のステロイドにより眼症状や関節拘縮の進行が抑制される一方で、他の疾患と誤認され病勢を進行させた場合には、失明、関節拘縮や脱臼によって生活は著しく障害される傾向が明らかになった。幸い臨床像は特徴的であるため、医療関係者等の関心を高めることができた

ば、適切な医学的対応が可能となり、生活に支障を来す重度障害の予防ができる。このため、疾患の紹介と情報提供を今後も継続して行う必要がある。

また、国内推定が 50 例ほどの稀少疾患であるが、情報を国際的に共用できれば病態解明の機会を増やすと期待される。自己炎症性疾患の国際会議を母体とした患者情報の国際レジストレーションが企画されており、収集した患者情報をこれに登録し、専門家による世界レベルでの情報共有を図る予定である。また、更なる症例の掘り起こしのために、遺伝子診断の機会を提供するとともに、集積した臨床情報を勘案してより実際に即したものになるよう診断基準（案）を改定していく。特に、3 主徴の 1 つである眼症状に対して、眼科医の参画を目指し助言を仰ぐ。

本症は、特異的な治療法は確立していない。病態に立脚した特異的治療の開発を目指し、遺伝子診断にて確定された症例を対象に、血清のサイトカインの網羅解析、末梢血単球での関連遺伝子の発現を網羅解析する。また、既存の TNF α や IL-1 β 阻害薬、in vitro での検証から活性が亢進していると推定される NF- κ B を抑制するサリドマイド、海外で開発の進む NOD2 に会合する RIP2 阻害剤の効果を検証する。

さらに、将来の治療法確立の際に関節エコーが病勢評価に足るものであるかを引き続き検討する。

本研究の中・長期的な目標は、NOD2 遺伝子のたった一つのアミノ酸置換によってヒトにおいて肉芽腫を形成する遺伝性疾患を足がかりに肉芽腫に関わるメカニズムを検討するものであることから、本研究での成果は、稀な遺伝性疾患の解析に留まらず、肉芽腫が関わる様々な病態、例えばサルコイドーシスなどの他の難病に対しても有用な情報

をもたらすと期待される。すなわち、一分子の異常が臨床症状を引き起こす疾患をより普遍的な肉芽種性疾患の解析へ手がかりとする点で、本研究は、まさにポストゲノム時代と言われる現在に合致したものである。

E. 結論

NOD2 変異を基盤とするブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する診療基盤の開発を目指し、研究に着手した。本症の臨床像は特徴的であるため、医療関係者等の関心を高めることができれば、適切な医学的対応が可能となり、生活に支障を来す重度障害の予防ができる。このため、疾患の紹介と情報提供を今後も継続して行う必要があると考えた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kambe N, Satoh T, Nakamura Y, Iwasawa M, Matsue H. (2011) Autoinflammatory diseases and the inflammasome: mechanisms of IL-1 beta activation leading to neutrophil-rich skin disorders. *Inflammation Regeneration* 31: 72-80.

Takei S. (2011) Systemic JIA as an auto-inflammatory disease. *Inflammation Regeneration* 31: 52-652.

Kanazawa N. (2011) Sarcoidosis and auto-inflammation. *Inflammation Regeneration* 31: 66-71.

Sakai H, Ito S, Nishikomori R, Takaoka Y, Kawai T, Saito M, Okafuji I, Yasumi T, Heike T, Nakahata T. (2010) A case of early-onset sarcoidosis with a six-base deletion in the NOD2

gene. *Rheumatology* (Oxford), 49: 194-6.

神戸直智 (2010) 総論 自己炎症疾患の病態から炎症を考える. 細胞 42: 356-9.

金澤伸雄 (2010) Blau/EOS の病態から炎症を考える. 細胞. 42 :372-5.

金澤伸雄 (2010) Blau/EOS: 肉芽腫形成性自己炎症疾患. 医学のあゆみ. 235: 1180-4.

金澤伸雄 (2010) 自己炎症疾患. 日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会誌. 4: 23-9.

金澤伸雄 (2010) 若年発症サルコイドーシス・Blau 症候群と NOD2 変異. 日皮会誌. 120: 2997-9.

金澤伸雄 (2011) 自己炎症疾患とは. 皮膚病診療. 33:8-14.

2. 学会発表

神戸直智 (2010) シンポジウム「Autoinflammation vs Autoimmunity」Autoinflammation による皮膚疾患の発症機序 (第31回日本炎症・再生医学会, 8月5-6日, 東京)

金澤伸雄 (2010) シンポジウム「Autoinflammation vs Autoimmunity」サルコイドーシスと Autoinflammation (第31回日本炎症・再生医学会, 8月5-6日, 東京)

武井修治 (2010) シンポジウム「Autoinflammation vs Autoimmunity」臨床から見た Autoimmunity と Autoinflammation (第31回日本炎症・再生医学会, 8月5-6日, 東京)

神戸直智, 佐藤貴史, 松江弘之, 金澤伸雄 (2010) 若年発症サルコイドーシスの親子例 (日本皮膚科学会長崎地方会第312回例会, 11月27-28日, 長崎)

Nishiyama M, Li HJ, Okafuji I, Kambe N, Furukawa F, Kanazawa N. (2010) Long-term ICAM-1 and transient PDGF-B expression on PMA-activated THP-1 cells harboring early-onset sarcoidosis/Blau syndrome-associated NOD2 mutations. (14th International Congress of Immunology, Aug. 22-27, Kobe, Japan)

Kanazawa N, Nishiyama M, Li HJ, Okafuji I, Kambe N, Furukawa F. (2010) Long-term ICAM-1 and transient PDGF-B expression on PMA-activated THP-1 cells harboring early-onset sarcoidosis/Blau syndrome-associated NOD2 mutations. (6th International Congress on FMF and SAID, Sep. 2-6, Amsterdam, The Netherlands)

Kanazawa N. (2010) Finding in vivo critical pathways by the analysis of rare auto-inflammatory disorders. (2nd JSID-Asia-Oceania-Forum in 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Dec. 5, Wakayama, Japan)

Nishiyama M, Kanazawa N, Li HJ, Okafuji I, Kambe N, Furukawa F. (2010) Transient PDGF-B expression on PMA-activated THP-1 cells harboring early-onset sarcoidosis/Blau syndrome-associated NOD2 mutations. (35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Dec. 3-5, Wakayama, Japan)

金澤伸雄, 西山瑞穂, 李洪錦, 古川福実, 岡藤郁夫, 神戸直智 (2010) 若年発症サルコイドーシス/ブラウ症候群に関連する NOD2 遺伝子変異を組み込んだ THP-1 細胞の解析 (第30回日本サルコイドーシス・肉芽腫性疾患学会総会, 10月1-2日, 浜松)

G. 知的所有権の所得状況

なし

1. 特許取得

3. その他

なし

なし

2. 実用新案登録

分担研究報告書

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 1

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する
罹患患者数把握のための全国調査に関する研究

研究分担者 松江弘之 千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 教授

研究要旨 ブラウ症候群および若年発症サルコイドーシスは、NOD2 遺伝子の変異を背景とする肉芽腫性疾患である。本研究では、日本での本症に罹患する患者数の実態調査を行うとともに、医療従事者に対して疾患概念の浸透を図ることを目的として、アンケート調査を行った。

全国の 500 床以上の病院を対象にアンケートを送付し、1268 通の返信を回収し（回収率：41.0%）、診断確定例 28 例、疑い症例 12 例、という結果を得た（2011 年 3 月 31 日現在）。

今後は、本調査を通じて存在が明らかとなった診断確定例および疑い例に対して、詳細な臨床情報を聴取するための 2 次アンケートを行い、本邦における本症の特徴を明らかにする予定である。また、本症の臨床像は特徴的であるため、医療関係者等の関心を高めることができれば、適切な医学的対応が可能となり、生活に支障を来す重度障害の予防ができる。このため、疾患の紹介と情報提供を今後も継続して行う必要があると考えた。

A. 研究目的

ブラウ症候群 (Blau syndrome) および若年発症サルコイドーシス (early-onset sarcoidosis) は、NOD2 遺伝子の変異を背景とする肉芽腫性疾患である。今日までに、研究分担者である西小森らを中心として、国内で 30 例ほどの症例が集積されているが (Okafuji, et al. *Arthritis Rheum* 2009)、疾患概念が十分に浸透していないためか、未だ適切に診断されていない症例が存在することが示唆される。

このような実態を踏まえて、日本での実態調査を行うとともに、疾患概念の浸透を図ることを目的とした。

B. 研究方法

日本における患者実態調査を行うとともに、疾患概念の浸透を図る。

本疾患は、家族歴の有無にかかわらず、4 歳以前に発症し、皮膚、関節、眼を主として冒し、組織学的に肉芽腫を呈するという明確な特徴を有する。しかしながら、多くの症例は当初別の疾患として小児科、皮膚科、眼科およびリウマチ科などで経過観察されていたことから、依然として診断の付かない症例が疾患概念が浸透していないために埋もれている可能性がある。

本症は、病勢の進行に伴い失明や関節拘縮を来すことから、症例の大半は主要施設にお

いて経過観察されていると予想されるため、全国の主要診療施設(小児科, 皮膚科, 眼科, 内科) に対して2段階方式のアンケート調査を予定し, まずは診断確定例および疑い例の症例数を把握するためのアンケート調査を行った。またアンケート送付時に, 臨床症状のまとめを同封することで, 本症の疾患概念の浸透と疑診例の発掘を計画した。

(倫理への配慮)

本研究の実施にあたっては, 人権擁護を配慮し, 全般にわたり, 世界医師会による「ヘルシンキ宣言」, 文部科学省および厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針(平成19年8月16日全部改訂)」を遵守して進めた。

また, 本調査を通じて存在が明らかとなった診断確定例および疑い例に対して, 詳細な臨床情報を聴取するための2次アンケートに際して, 文部科学省および厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針(平成19年8月16日全部改訂)」に従って計画の審査を受け, 千葉大学倫理審査の承認を受けた(受付番号1150)。

C. 研究結果

患者実態調査と疾患概念の浸透

1) アンケート形式の確定

8月に開催された第31回日本炎症・再生医学会とそれに引き続いて行われた自己炎症症候群研究会, 9月にオランダにて開催された第6回国際自己炎症症候群研究会, およびその後のメールのやりとりから, 研究代表者, 研究分担者および研究協力者として岡藤郁夫(神戸市立医療センター中央市民病院小児科)と情報交換を行い, 巻末添付資料1のように臨床像をまとめるとともに, 1次アン

ケートに際して, 疑い症例の例数を尋ねるのではなく, 「以下のような症状を示す患者さんはおられますか?」と具体例を挙げて尋ねることで, 疾患概念の浸透とともに他の疾患として扱われている症例の掘り起こしを図った。これは, これまで我々が収集してきた症例の多くが, 本症の認知度の低さから, 当初はアトピー性皮膚炎や様々な皮膚肉芽種性疾患, 若年性特発性関節リウマチや関節リウマチとして経過観察されていたためである。

表1 診断確定例および疑い例があると回答した施設名一覧(同一の症例が複数の医療機関で診察を受けている可能性がある)

診断確定例

千葉大学, 日立製作所ひたちなか総合病院, 日立総合病院, 信州大学, 滋賀県立小児保健医療センター, 大阪大学, 大阪医科大学, 大阪府立母子保健総合医療センター, 香川小児病院, 産業医科大学, 九州大学, 長崎大学, 白十字会佐世保中央病院, 佐世保市立総合病院, 宮崎病院, 鹿児島大学, 金沢大学, 福島県立医科大学, 東北大学

疑い例

東京都立小児総合医療センター, 獨協医科大学越谷病院, 富士市立中央病院, 浜松医科大学, 北九州市立医療センター, 産業医科大学, 熊本大学, 宮崎病院, 鹿児島大学, 富山大学, 宮城県立こども病院

2) アンケート回収と結果

実際に, 全国の500床以上の病院(内科, 小児科, 整形外科, 皮膚科)を対象に3137通のアンケートを送付し, 該当科なしと返信された70通を除いて, 巻末添付資料3として掲げる施設の診療科より1268通の返信を

回収し（回収率：41.0%）、診断確定例 28 例、疑い症例（上記の「以下のような症状を示す患者さん」に相当する症例）12 例、という結果を得た（表 1）（2011 年 3 月 31 日現在）。

D. 考察

本症の臨床像は特徴的であるため、医療関係者等の関心を高めることができれば、適切な医学的対応が可能となり、生活に支障を来す重度障害の予防ができる。このため、疾患の紹介と情報提供を今後も継続して行う必要があると考えた。

E. 結論

全国の 500 床以上の病院を対象にアンケートを送付し、1268 通の返信を回収し（回収率：41.0%）、診断確定例 28 例、疑い症例 12 例、という結果を得た（2011 年 3 月 31 日現在）。

今後は、本調査を通じて存在が明らかとなった診断確定例および疑い例に対して、詳細な臨床情報を聴取するための 2 次アンケートを行い、本邦における本症の特徴を明らかにする予定である。なお、本来であれば、年度末である 3 月末までに 2 次アンケートを発送し回収するスケジュールで、千葉大学倫理委員会へと計画書を申請し承認を得て（受付

番号 1150）、発送の準備をしていたが、3 月 11 日に発生した震災のために発送を見送った。2 次アンケートの実施については状況を見ながら、2012 年度中に行い、本邦における臨床像の特徴をまとめる予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

神戸直智，佐藤貴史，松江弘之，金澤伸雄（2010）若年発症サルコイドーシスの親子例（日本皮膚科学会長崎地方会第 312 回例会，11 月 27-28 日，長崎）

G. 知的所有権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスにおける NOD2 変異について

研究分担者 西小森隆太 京都大学大学院医学研究科発達小児科学 准教授

研究要旨 若年性サルコイドーシス/Blau 症候群は皮疹、関節炎、ブドウ膜炎を三主徴とする主として4歳以下で発症する自己炎症症候群の1つである。近年、病因として NOD2 遺伝子異常との関連が明らかにされた。今回 NOD2 遺伝子異常を認めた本邦 28 症例の遺伝子型を集計した。今回の検討ではミスセンス変異のみでなく、6塩基欠失の症例を同定した。R334W 変異が最多で 10 症例、R334Q 4 症例、R587C 4 症例、E383G 2 症例、D382E, G481D, C495Y, H496L, M513T, T605P, N670K, 6塩基欠失 (E498V, 499-500del), いずれも 1 例ずつ認めた。6塩基欠失を含め、いずれも変異 NOD2 遺伝子はリガンド非依存的 NF- κ B 活性化能をもち、その病因としての重要性が確認された。

A. 研究目的

若年性サルコイドーシス/Blau 症候群は皮疹、関節炎、ブドウ膜炎を三主徴とする主として4歳以下で発症する自己炎症疾患の1つである。近年、病因として NOD2 遺伝子異常との関連が明らかにされた。

今回、若年性サルコイドーシス/Blau 症候群が臨床的に疑われ、NOD2 遺伝子変異が同定された本邦 28 症例の遺伝子型、変異 NOD2 遺伝子による NF- κ B 活性化能を検討し、本邦における若年性サルコイドーシス/Blau 症候群の遺伝的背景、その病因としての関連を検討した。

B. 研究方法

若年性サルコイドーシス/Blau 症候群患者の全血/PBMC より抽出された DNA 検体を用いて NOD2 の全エクソンを遺伝子解析した。ま

た各 NOD2 遺伝子変異の疾患関連性については、293T 細胞における *in vitro* 強制発現系での変異 NOD2 遺伝子による NF- κ B レポーター活性を検討した。

(倫理への配慮)

遺伝子解析を行うにあたり、京都大学医学部医の倫理委員会に、“ヒト原発性免疫不全症の臨床的遺伝子診断”の申請を行い、承認を得ている (G-32)。その内容を忠実に順守して研究を行っている。

C. 研究結果

患者実態調査と疾患概念の浸透

28 症例中、R334W が最多で 10 症例認めた。R334Q, R587C はいずれも 4 症例、E383G は 2 症例認めた。D382E, G481D, C495Y, H496L, M513T, T605P, N670K はいずれも 1 症例ずつであった。以上はいずれもミスセンス変異であったが、6塩基欠失変異 (E498V,

499-500del) が 1 例報告された (表 1)。

いても同様のリガンド非依存性に NF- κ B 活性化能増加を確認した (図 1)。

表 1 本邦若年性サルコイドーシス/Blau 症候群症例の NOD2 遺伝子型

変異	例数	%
R334W	10	35.7
R334Q	4	14.3
R587C	4	14.3
E383G	2	7.1
D382E	1	3.6
G481D	1	3.6
C495Y	1	3.6
H496L	1	3.6
M513T	1	3.6
T605P	1	3.6
N670K	1	3.6
E498V, 499-500del	1	3.6
計	28	100

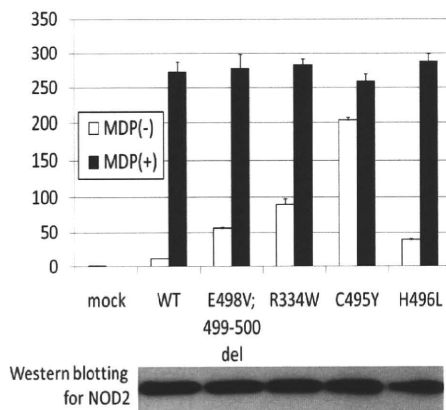


図 1 6 塩基欠失 NOD2 (E498V, 499-500del) によるリガンド非依存性 NF- κ B 活性化能

293T 細胞での強制発現系において、変異 NOD2 遺伝子による NF- κ B レポーター活性を検討したところ、いずれの NOD2 変異体でもリガンド非依存性に NF- κ B 活性化能の増加を認めた。特に 6 塩基欠失 NOD2 変異にお

D. 考察

本邦における遺伝子変異の検討では、R334W が最多で 35.7%, R334Q, R587C が 14.3% であった。International registry においては R334W, R334Q いずれも 40% を占めており、本邦における R334Q 変異が少なく、1 例報告である変異が多数存在するのが特徴であった。

また若年性サルコイドーシス/Blau 症候群の NOD2 変異はこれまで全てミスセンス変異であったが、世界で初めて 6 塩基欠失症例を発見した。この症例の変異塩基部位は種により保存されている部分であった。さらにリガンド非依存性 NF- κ B 活性化能増加を認めた。他の全ての遺伝子型においてリガンド非依存性 NF- κ B 活性化能増加を認めることと併せて、NOD2 変異の疾患特異的な性質としてリガンド非依存性 NF- κ B 活性化能増加が重要であることを再確認した。

E. 結論

NOD2 変異を同定できた若年性サルコイドーシス/Blau 症候群本邦 28 症例における NOD2 遺伝子型を集計した。疾患特異的 NOD2 変異の性質として、リガンド非依存性 NF- κ B 活性化能増加が重要であることが再確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sakai, H., S. Ito, R. Nishikomori, Y. Takaoka, T.

Kawai, M. Saito, I. Okafuji, T. Yasumi, T. Heike, and T. Nakahata, A case of early-onset sarcoidosis with a six-base deletion in the NOD2 gene. *Rheumatology* (Oxford), 2010. 49(1): p. 194-6.

Kambe, N., T. Satoh, H. Tanizaki, A. Fujisawa, M.K. Saito, and R. Nishikomori, Enhanced NF-kappaB activation with an inflammasome activator correlates with activity of autoinflammatory disease associated with NLRP3 mutations outside of exon 3. *Arthritis Rheum*, 2010. 62(10): p. 3123-4; author reply 3124-5.

Kambe, N., Y. Nakamura, M. Saito, and R. Nishikomori, The inflammasome, an innate immunity guardian, participates in skin urticarial reactions and contact hypersensitivity. *Allergol Int*, 2010. 59(2): p. 105-13.

2. 学会発表

西小森隆太, 田中尚子, 井澤和司, 酒井秀政, 村田祐樹, 横山宏司, 阿部純也, 田中孝之, 斎藤潤, 河合朋樹, 八角高裕, 中畑龍俊, 平家俊男: サイトカインを標的とした病態制御

の可能性 抗 IL-1 療法; 第 30 回日本炎症・再生医学会, 2010 年 8 月 5 日~6 日, 東京.

西小森隆太: "炎症"病態の観点から見た小児疾患 自己炎症性疾患における炎症病態 NLRP3 遺伝子を中心にして: 第 113 回日本小児科学会総会, 2010 年 4 月 23 日~25 日, 盛岡.

西小森隆太, 田中尚子, 井澤和司, 斎藤潤, 八角高裕, 小原收, 中畑龍俊, 平家俊男: 自己炎症症候群の新しい展開 "NLRP3 変異陰性" CINCA 症候群/NOMID における NLRP3 モザイシズムについて: 第 55 回日本リウマチ学会総会, 2010 年 4 月 24 日~27 日, 神戸.

G. 知的所有権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書 3

単一施設で長期経過観察した若年発症サルコイドーシスの臨床経過からみた
診断基準作成のための提案

研究分担者 武井修治 鹿児島大学医学部保健学科 教授

研究要旨 単一の小児リウマチ診療施設で、診断確定前から長期間(平均観察期間10.9年)にわたって臨床像を観察した若年発症サルコイドーシス (early-onset sarcoidosis, EOS) 7例の経過から、EOSの診断に有用な臨床像を解析した。

経過中に全例でみられた臨床所見は、1) 関節炎、2) 手背・足背の囊腫状腫脹、3) 可動域制限を伴わない指趾中節関節の屈曲、4) 自己抗体陰性であった。関節炎は、検討した7例全例で発症時から出現し、本邦報告例でも19/20例に認められていたことから、EOSの中核病態と思われた。実際、対象のEOS7例は全例が前医でJIAと診断されており、JIAとの鑑別の重要性が示唆された。また、手背・足背の囊腫状腫脹と、経過とともに顕在化する可動性を残した指趾中節関節の屈曲拘縮は、EOSに特有な症状であり、これらはJIAとの鑑別に有用と思われた。また、上記1)～4)に加えて、ぶどう膜炎、弛張熱、皮疹がある例は、EOSの可能性が高いことが示唆された。

抽出されたこれらの臨床所見は、今後展開される全国調査の二次調査の結果を踏まえて、その出現時期や特異性に重み付けを行うことで、臨床診療の基盤となる診断基準の策定に役立つものと思われる。

研究協力者

山崎 雄一 鹿児島大学医歯学総合研究
科 大学院生

西小森隆太 京都大学大学院医学研究科
発達小児科学 准教授

岡藤 郁夫 神戸市立医療センター中央
市民病院小児科

A. 研究目的

小児リウマチ領域では、乳幼児期の早期に関節炎を発症し、若年性関節リウマチ juvenile rheumatoid arthritis (JRA, 現在ではJIAと呼ばれる)を疑って実施した病理組織検査に

おいて、サルコイドーシスと同じ非乾酪性類上皮肉芽腫が滑膜や腱に見つかることがあり、これまで若年発症サルコイドーシス early onset sarcoidosis (EOS)と呼ばれていた。その病因・病態は長い間不明であったが、家族歴がありEOSと類似した病態を持つBlau症候群で、NOD2/CARD15の変異がMiceli-Richardらにより2001年に確認され、その後2005年にKanazawaら (*Blood*, 2005)が同じ遺伝子変異をEOSで確認したことから、Blau症候群/EOSと並列して記載されるようになった。

このように、Blau症候群/EOSは小児リウ

表 1 : 当科における若年発症サルコイドーシス(遺伝子変異確認例)

症例	性	発症年齢	診断年		診断時年齢	発症→ 診断	観察期間 (y)
			病理組織	遺伝子診断			
NT	男	2y	1997	2006	(10y), 19y	8y	15y
NK	男	8m	1999	2006	(5y), 12y	4.3y	15y
UE	男	1y8m	2002	2009	(2y), 9y	0.3y	10y
MK	男	6m	ND	2006	15y	14.5y	18y
YA	女	3y8m	ND	2006	8y	4.3y	8y
AA	女	3y6m	ND	2009	10y	6.5y	7y
TE	女	7y	ND	2009	16y	9y	3y

() は病理組織像による診断時年齢

ND:未実施

マチ領域においては関節炎を中核所見として診断されてきた経緯がある。一方、鹿児島大学小児科は、小児リウマチ医療の専門医療施設であり、関節炎病態をもつ小児が西日本の各地から受診しており、この中から臨床的に EOS を疑い、遺伝子検査にて NOD2 変異を確認した EOS 7 症例の集積がある。一方、これまでに本邦 EOS 20 例の臨床像をまとめた報告 (Okafuji,2009) はあるが、その臨床像に関しては多施設からの情報を断片的に集約したものであり、時間経過を軸とした情報に乏しい面があった。

そこで、単一施設で初診時からの臨床経過を長期にわたって詳細に観察した 7 例の臨床経過を解析することで、Blau 症候群/EOS の診療基盤開発の中核となる、診断基準の策定に必要な情報提供を試みる。

B. 研究方法

当科で臨床像から EOS を疑い、NOD2 遺伝子変異を確認した 7 例を対象に、発症時からの臨床経過を retrospective に検討した。遺伝子検査の検体採取にあたっては、倫理委員会の承認を経た承諾書を用いて患児保護者に説明し、了承を得て行った。NOD2 変異の検

索にあたっては、分担研究者である京都大学小児科西小森隆太准教授に依頼した。

C. 研究結果

1) 症例のプロファイルと診断時期 (表 1)
対象 7 例 (男女比 4 : 3) の平均観察期間は 10.9 年であり、観察期間が最も長い例は 18 年であった。

発症年齢は、4 歳未満の発症が 7 例中 6 例を占め、1 歳未満のものも 2 例 (6 か月, 8 か月) にみられた。7 歳で発症した 1 例では 4~5 歳までよく熱を出していたとのエピソードはあったが、EOS の初期症状と確認することは出来なかった。

当科で最初の 1 例を EOS と診断したのは 1997 年であり、全身型 JIA と診断されていた 7 歳児に、ぶどう膜炎、喀血 (気管支粘膜下の静脈怒張)、心機能低下 (心筋虚血) を認め、これらの臨床像から EOS を疑い、皮膚病理組織像から診断された例であった。当時、この症例と類似した臨床像を持つ症例が 2 例おり、いずれも 2002 年までに病理組織検査が行われ (皮膚、滑膜)、その病理像から

表 2：当科における若年発症サルコイドーシス(遺伝子変異確認例)

症例	初期診断	発熱	皮疹	関節炎	囊腫状腫脹	ぶどう膜炎	指趾屈曲拘縮*	RF/ANA	遺伝子検査の契機	遺伝子変異
NT	sJIA	弛張熱	小丘疹 →EN	+	+	+	++	-/-	病理組織 (皮膚)	R334Q
NK	sJIA	弛張熱	小丘疹 →EN	+	+	+	++	-/-	病理組織 (滑膜)	R334W
UE	sJIA	弛張熱	小丘疹 →EN	+	+	+	++	-/-	病理組織 (滑膜)	R334W
MK	sJIA	弛張熱 (1y6m)	小丘疹 →EN	+	+	+	++	-/-	囊腫状腫脹 ぶどう膜炎 皮疹	R334Q
YA	RF(-) PoJIA	-	-	+	+	-	+	-/-	囊腫状腫脹	R334Q
AA	RF(-) PoJIA	-	-	+	+	-	+	-/-	囊腫状腫脹	R587C
TE	sJIA	弛張熱 (11y)	-	+	+	+	+	-/-	囊腫状腫脹 ぶどう膜炎	R587C

sJIA:全身型 JIA, RF(-)PoJIA:リウマトイド因子陰性多関節型 JIA EN:結節性紅斑

初発症状

RF:Rheumatoid factor, ANA:抗核抗体

*++: 屈曲強く日常生活に支障あり, +: 軽度で支障なし

EOS と診断された。また、これらの 3 例で NOD2 変異が確認されたのは、病理組織検査が行われた 7~9 年後であった。一方、2006 年以降に診断された残り 4 例は、いずれも臨床像から EOS を疑い、遺伝子検査で NOD2 変異を認めて診断された症例であった。

発症から診断までの期間は平均で 6.7 年であり、最短で 4 か月、最長で 14.5 年であった。最短の例 (UE) は、当科へ相談があった時点で既に病理組織像から 2 例の EOS を診断した後であり、その 2 例と臨床像がきわめて類似していたことから生検を勧めた例であった。最長例 (MK) では、その臨床像から EOS が早くから疑われていたが、当時の唯一の診断方法である病理組織検査を、家族がその侵襲性から拒否していた症例であり、侵襲性のない遺伝子検査が可能になった時点で初めて診断が確定した。

2) 初期臨床像 (表 2)

初発症状としては、全例に関節炎があり、皮疹を伴ったものを 4 例認めた。皮疹はいずれも発症早期には充実性の小丘疹であったが、うち 3 例は経過中に有痛性の結節性紅斑様皮疹の出現・消退を繰り返すようになった。発熱を認めない 2 例では、皮疹の出現はみられていなかった。

関節炎の部位は、指関節、手関節、足関節など多様な部位に出現していたが、指全体の腫脹を伴うものが多かった。7 例中 6 例は関節痛ありと記載されていたが、その程度の評価は困難であった。1 例では関節腫脹のみで、関節痛なしと記載されていた。

3) 初期診断 (表 2)

7 例の前医による初期診断は、全例で JIA であった。

病型では、弛張熱を認めた 5 例は全身型 JIA と診断されていた。しかし、発症早期に