

201128239A

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 23 年度 総括・分担研究報告書

平成 24(2012)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 23 年度 総括・分担研究報告書

平成 24(2012)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 (九州大学大学院医学研究院)	
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	10
石ヶ坪 良明 (横浜市立大学病態免疫制御内科学)	
2. 自己炎症性疾患の診断・鑑別のためのスクリーニング検査 に関する研究	14
武井 修治 (鹿児島大学医学部保健学科)	
3. 我が国における TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の患者数 —モンテカルロ・シミュレーションを用いた患者数と 95%信頼区間 の推計—	19
鷲尾 昌一 (聖マリア学院大学看護学部)	
4. 炎症性疾患の病態におけるエピジェネティック機構を介した免疫調節 に関する基礎的研究	26
簗田 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. PFAPA 症候群における単球および好中球の CD64 発現	33
楠原 浩一 (産業医科大学小児科)	
6. 成人スチル病における血清プロカルシトニン測定 の臨床的意義	35
高橋 裕樹 (札幌医科大学医学部第一内科)	
7. 中枢神経症状を呈した抗 U1RNP 抗体陽性膠原病における髄液中の 抗 U1RNP 抗体に関する研究	42
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)	
8. 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	51
井田 弘明 (久留米大学医学部 呼吸器・神経・膠原病内科)	
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	57

田平 知子 (九州大学生体防御医学研究所)

10. 遺伝性稀少免疫疾患の遺伝子解析システムの構築と
その応用 62

宮原 寿明 (国立病院機構九州医療センター)

11. 血清 Progranulin の慢性炎症性疾患病態への関連 68
塚本 浩 (九州大学大学院医学研究院)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 72

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 型遺伝子（*TNFRSF1A*）の異常が報告されたが、詳しい病態は不明である。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 23 年度は、全国調査によって判明した TRAPS 疑い患者のうち 113 名について遺伝子解析を行い 7 名（6.2%）に *TNFRSF1A* の異常を見出した。6 名は T90I、1 名は過去に報告のない S350I であった。TRAPS の臨床症状と経過を欧米の TRAPS 患者と比較すると、発熱、皮疹、関節痛などの頻度は差がないものの、腹痛、胸痛、筋肉痛、眼症状が本邦 TRAPS ではきわめて乏しいことがわかった。今後はこれら異常の機能的解析を並行して行い、本邦 TRAPS の診断基準を完成させる。

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
蓑田清次 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
塚本浩 九州大学病態修復内科 助教
宮原寿明 国立病院機構九州医療センター
部長

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

日常臨床においては、不明熱に遭遇することは多く、その中には発熱を繰り返す場

合も稀ならず存在する。このような患者では、発熱のみならず関節痛、皮疹などの随伴症状を伴うことがあり診断に難渋することも多い。こうした患者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 TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) が 1999 年 McDermott らによって報告された。TRAPS は、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。Tumor necrosis factor (TNF) 受容体 1 型の変異が関連する疾患であり本邦では私どもの報告 (Horiuchi T et al. *Int J Mol Med* 2004) をふくめ数例の報告しかなかったが、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が、周期性に激しい炎症を生じる詳しいメカニズムは不明である。

本研究においては、実態が全く不明である本邦 TRAPS について全国調査を行い、臨床症状や経過を明らかにし、さらに遺伝子解析、細胞生物学的解析を行って病態を明らかにして、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。また厚生労働行政の課題との関連について付言する。厚労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く、実際 TRAPS と似た病態を呈して誤診されることすらある。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)。厚労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労省施策の適切な遂行に不可欠であり、本研究班の意義は大きい。

B. 研究方法

本研究班の研究方法は以下の大きく 4 段階に集約される。第 1 段階は TRAPS 疑い患者の全国調査、第 2 段階は TRAPS ならびに関連疾患の遺伝子解析による確定診断、第 3 段階は臨床症状、検査値、異常 TRAPS 遺伝子産物の機能異常の解析を行い病態を解明し、第 4 段階は診断基準を完成する。

昨年の本研究班報告において、第 1 段階の結果と第 2 段階の進行状況を報告した。

今年度は、第 2 段階の結果ならびに第 3 段階の進行状況を中心に報告する。

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 (班員全員で担当)。その結果から、全国の TRAPS 患者数を 423 例と推計した (鷺尾、徳永) (詳細は平成 22 年度 当研究班報告書参照)。

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した (堀内、田平、塚本、宮原)。

第 3 段階：過去に論文として発表されている典型例 6 例、今回の解析で明らかになった TRAPS 患者について、臨床症状を比較し、特徴を解析した (堀内、鷺尾、徳永、塚本)。

C. 研究結果

1. 遺伝子解析

昨年度に報告したように、全国の 200 床以上のすべての施設の内科、小児科から回答を受けた TRAPS 疑い患者 263 名のうち、同意の得られた患者について *TNFRSF1A* (TRAPS 責任遺伝子)、*MEFV* (家族性地中海熱)、*MVK* (メバロン酸キナーゼ欠損症) の全コーディングエクソンの遺伝子解析を行った。2012 年 5 月 7 日現在、113 名についてこれら 3 遺伝子すべてについて解

析を終了している。詳細については、分担研究者田平知子博士の項を参照されたい。

1) TNF 受容体 1 型遺伝子 (*TNFRSF1A*) の異常

113 例のうち 7 例 (6.2%) にヘテロの遺伝子異常を認めた。うち 6 例は T90I (TNF 受容体 1 型の 90 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 : leader peptide の 29 個のアミノ酸を計算から外すと T61I とも表記される) を認めた。一方、健常人 359 名においては T90I をより低頻度の 8 名 (2.2%) にヘテロで認めた。日本人では T90I を持っている場合には TRAPS 発症の危険因子となりうる事が明らかになった。この異常は *TNFRSF1A* の TRAPS 患者における hotspot である exon2-4 に含まれる exon3 にあり、TNF 受容体 1 型の細胞外ドメインの大部分を占める 4 個の cysteine-rich domain (CRD) のうち 2 番目の CRD2 内に位置していた。

残りの 1 例は S350I (TNF 受容体 1 型の 350 番目のアミノ酸セリン S からイソロイシン I への置換 : leader peptide の 29 個のアミノ酸を計算から外すと S321I とも表記される) を有していた。この変異は健常人には全く認めなかった。したがって変異と考えられる。この変異は *TNFRSF1A* の exon9 にあり、TRAPS 患者では通常異常を認めない細胞内ドメインに位置している。この変異の場所は TNF 受容体 1 型の機能ドメインである death domain の極めて近傍にあることから何らかの機能異常を有していることが推定された。

欧米人において R121Q, P75L (leader peptide の 29 個のアミノ酸を計算から外すと R92Q, P46L とも表記される) 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、我々の解析した TRAPS 疑い患者 113 例ならびに健常人 359 例にはまったく認めなかった。

2) 家族性地中海熱の原因遺伝子 (*MEFV*) の異常

一般人で検出されていない非同義置換 SNV (一塩基多型・変異両者を含めて single nucleotide variation: SNV と略称) として、昨年度検出した I591T に加えて H478Y, Y688C, M694I を検出した。I591T, H478Y, Y688C, M694I の SNV はすべてヘテロであり TRAPS 疑い患者 113 例の中から各 1 例ずつ認めた。このほかに非同義置換 SNV として、E84K, L110P, E148Q, R202Q, G304R, P369S, R408Q が患者検体で同定されたが、いずれも一般人試料で 1% 以上のアレル頻度で認められたため病的な意義、機能的な意義については更なる検討が必要である。

3) メバロン酸キナーゼ欠損症の原因遺伝子 (*MVK*) の異常

非同義置換として V109L が 1 例の患者にヘテロで検出された。これは一般人集団でも同じ程度の頻度で検出されたので、疾患と関連しているかどうかはまだ検討する必要がある。ただしこの症例はメバロン酸キナーゼ欠損症の症状と矛盾しなかった。京都大学小児科に連絡し、さらなる解析を依頼した。

4) 全身性エリテマトーデス患者での *TNFRSF1A* の異常

その他の慢性炎症性疾患における TNF 受容体 1 型遺伝子を解析する目的で、633 例の全身性エリテマトーデス (systemic

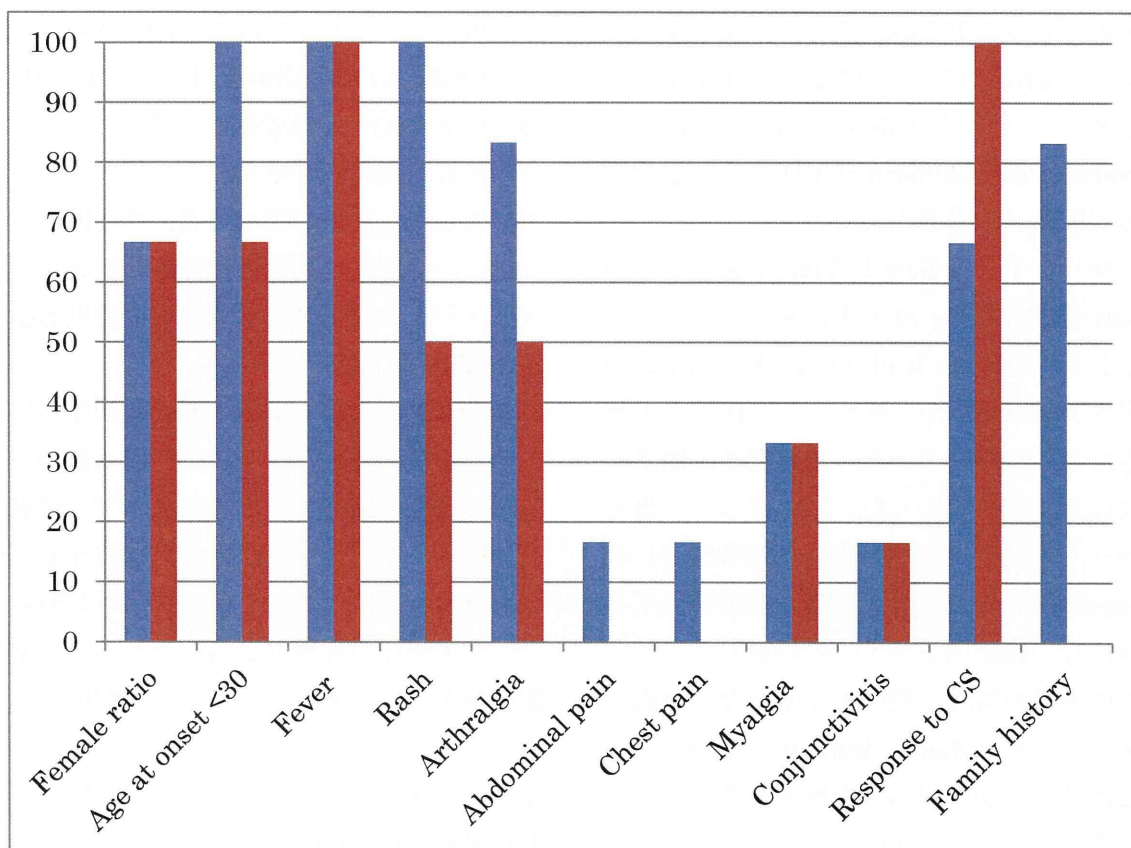
lupus erythematosus: SLE) 患者について *TNFRSF1A* の異常を解析した。その結果 R133Q を 3 例に、Y135H を 1 例に認めた (それぞれ leader peptide の 29 個のアミノ酸を計算から外すと R104Q, Y106H とも表記される)。健常人ではこれらの異常は認めなかったため炎症疾患に関連する可能性がある。

2. 本邦 TRAPS 患者の臨床症状の解析

過去に論文として発表された 6 家系の遺伝子異常 (N25D, C30R, C30Y, C70G, C70S, N101K) は健常人では認めないため典型的な変異と思われる。これら既報の TRAPS 症例の発端者 (proband) について臨床症状を

まとめた (鷲尾、徳永)。

女性の比率は 66.7%、30 歳以下での発症は 100%、発熱 100%、発疹 100%、関節痛 83.3% と高頻度に認めるが、腹痛 16.7%、胸痛 16.7%、筋肉痛 33.3%、結膜炎などの眼症状 16.7% は頻度が低かった。ステロイド剤への反応は 66.7%、家族歴 83.3% と頻度が高かった。なお、Stojanov ら (*Exp Rev Mol Med* 2005) の報告した欧米の TRAPS 症例 153 例の臨床症状の頻度と比べると、本邦 TRAPS では腹痛、胸痛、筋肉痛、結膜炎などの眼症状の頻度が明らかに低く、本邦 TRAPS では臨床症状が軽度である可能性が考えられた。



青の bar が、既報の TRAPS6 家系の臨床症状
赤の bar が、T90I の 6 例の臨床症状

一方、今回の検討で見出された T90I の 6 例について、臨床症状を解析した（堀内、塚本）。女性 66.7%、30 歳以下での発症 66.7%、発熱 100%、発疹 50%、関節痛 50%、筋肉痛 33.3%、結膜炎などの眼症状 16.7% であった。これらの症状がみられる頻度は既報の典型例と大きな違いは認めなかった。しかしながら T90I では腹痛 0%、胸痛 0% であり、ステロイド剤への反応も 100% であり、症状は本邦 TRAPS 典型例に比べてさらに軽度であることが明らかになった。家族歴は 0% であった。

S350I 症例については、発症年齢は 4 歳（遺伝子解析時は 18 歳）、症状は 1 か月で自然軽快する繰り返す発熱、移動性の関節痛、皮疹、強い筋肉痛があり、家族歴がないことを除けば典型的 TRAPS の症状として矛盾しなかった。

D. 考察

TRAPS 疑い患者について大規模な全国調査を行った報告は国内外でもなく本研究の意義は大きい。今年度の成果として、第一に 113 例の疑い患者すべてに *TNFRSF1A* (TRAPS 責任遺伝子)、*MEFV* (家族性地中海熱)、*MVK* (メバロン酸キナーゼ欠損症) の全コーディングエクソンの遺伝子解析を行い多くの SNV を同定したことにある。第二に本邦の TRAPS 患者すべてについて臨床症状を解析し、その特徴を明らかにしたことである。これらの結果は、本邦 TRAPS の病態解明と診断基準作成に向けた来年度の展開に寄与すると考えられる。

TNFRSF1A (TRAPS 責任遺伝子) の解析を行った結果、7 例 (6.2%) に SNV を

認めた。うち 6 例に T90I を認め、1 例に S321I を同定した。T90I は井田らが SLE を合併した TRAPS について初めて報告している (*Rheumatology* 2004)。今回の検討でも T90I は典型的な SNV と比べて浸透率は高くないものの病態に関与する異常であることが明らかになった。T90I は欧米に報告のない本邦に特異的な異常である。TRAPS 発見当初は TNF 受容体の shedding (切断) が障害されて異常 TNFR が細胞表面に蓄積して TNF シグナルの過剰が起きると思われていたが、変異 TNF 受容体トランスジェニックマウス由来の白血球を用いた最近の研究では新たな病態が提唱されている。すなわち、変異による TNF 受容体の misfolding (タンパク質の折り畳み不良) のため小胞体 (ER) の品質管理機構により異常たんぱくが ER に停滞することによって炎症を惹起するという。T90I や新規に今回の研究で見つかった S350I が他の典型的な変異と同様 ER に停滞するかについて現在検討を進めている。たとえば S350I は細胞内ドメインの変化であり ER 停滞は起こさない可能性もある。ER への停滞の有無に基づいて TRAPS をさらに分類できる可能性がある。

TNFRSF1A に異常を認めなかったが、*MEFV* に一般人で検出されていない非同義置換 SNV を有する患者を 4 例認めた。また *MVK* の非同義置換 SNV も 1 例に認めた。これらはすべてヘテロであった。これらの SNV には家族性地中海熱の原因変異として既報のものもあることから、TRAPS 疑い患者の中には、他の自己炎症疾患患者が紛れ込んでいる可能性があり、遺伝子解析は有効な診断方法であることが再確認された。

TRAPS の臨床症状の解析からは大きく 2 つの知見が得られた。第一の知見は、本邦 TRAPS は欧米に比べて症状が軽い傾向があることが明らかになったことである。TRAPS の多彩な症状のうち、発熱、皮疹、関節痛などの症状は欧米と本邦とで同じ頻度であるが、その一方で腹痛、胸痛、筋肉痛、眼症状が本邦 TRAPS ではきわめて乏しい。腹痛、胸痛は漿膜炎を反映していると思われ、また筋肉痛は筋膜炎などの存在を示唆する。本邦 TRAPS ではこれらの病態が軽度であることが考えられる。第二の知見は、同じ日本人 TRAPS 患者の中でも、T90I を有する患者は、それ以外の変異を有する患者に比べてさらに症状が軽度になり、上記腹痛、胸痛の症状を認める症例が 0% になることである。遺伝子解析の結果とも併せて考えると T90I は欧米にはない新しいタイプの TNF 受容体 1 型異常であることが明らかになった。

E. 結論

本邦における TRAPS の実態調査を行うことによって、遺伝子解析で確診することのできた 7 例の TRAPS 患者を新たに見出した。これら患者で見られた異常は T90I, S350I の 2 種類であり、ともに通常の典型的変異で引き起こされる常染色体優性の遺伝形式はとらなかつた。浸透率の低い Low penetrance の別の部位の遺伝子異常は欧米でも報告されているが、これら 2 種類の異常は本邦独自の異常であった。臨床症状の解析では、本邦 TRAPS は欧米に比べて腹痛、胸痛、筋肉痛、眼症状の頻度が低く、漿膜炎などの病態が軽度である可能性が示唆された。今後、in vitro で異常 TNF 受容体分子

の機能解析を並行しておこないながら本邦 TRAPS の診断基準作成に向けてさらに検討を進める。

F. 健康危険情報

特記すべき事項はない

G. 研究発表

1. 論文発表

研究代表者：堀内孝彦

・ Furukawa M, Kiyohara C, Tsukamoto H, Mitoma H, Kimoto Y, Uchino A, Nakagawa M, Oryoji K, Nakashima H, Akashi K, Harada M, Horiuchi T: Prevalence of and risk factors for low bone mineral density in Japanese female patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol. Int.* 31(3): 365-376, 2011

・ Tsukamoto H, Nagafuji K, Horiuchi T, Mitoma H, Niuro H, Arinobu Y, Inoue Y, To K, Miyamoto T, Iwasaki H, Teshima T, Harada M, Akashi K: Analysis of immune reconstitution after autologous CD34+ stem/progenitor cell transplantation for systemic sclerosis: predominant reconstitution of Th1 CD4+ T cells. *Rheumatology (Oxford)* 50(5): 944-952, 2011

・ Yabuuchi H, Matsuo Y, Tsukamoto H, Sunami S, Kamitani T, Sakai S, Hatakenaka M, Nagafuji K, Horiuchi T, Harada M, Akashi K, Honda H: Correlation between pretreatment or follow-up CT findings and therapeutic effect of autologous peripheral blood stem cell transplantation for interstitial

pneumonia associated with systemic sclerosis. *Eur. J. Radiol.* 79(2): e74-79, 2011

・Harashima S, Wang Y, Horiuchi T, Seino Y, Inagaki N: Purkinje cell protein 4 positively regulates neurite outgrowth and neurotransmitter release. *J. Neurosci. Res.* 89(10): 1519-1530, 2011

・Yoshida K, Komai K, Shiozawa K, Mashida A, Horiuchi T, Tanaka Y, Nose M, Hashiramoto A, Shiozawa S: Role of the MICA polymorphism in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 63(10): 3058-3066, 2011

・Kiyohara C, Horiuchi T, Takayama K, Nakanishi Y: Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and interaction with smoking and alcohol consumption in lung cancer risk: a case-control study in a Japanese population. *BMC Cancer* 11: 459-468, 2011

・Kasamatsu Y, Yoshinoya K, Kasamatsu Y, Yamamoto T, Horiuchi T, Kadoma M: A case of hereditary angioedema involving recurrent abdominal attacks. *Intern. Med.* 50 (23):2911-2914, 2011

・堀内孝彦、原島伸一、下田照文：膜型 TNF の構造と機能. *リウマチ科* 46(4): 442-450, 2011

・堀内孝彦：突発性浮腫への対応 - 遺伝性血管性浮腫 (HAE) の鑑別診断と治療 - . 週刊「日本医事新報」No.4545, 73-79, 2011

以下論文抜粋

研究分担者：石ヶ坪良明

・Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Ueda A, Ohno

S, Ishigatsubo Y: Behcet disease: evolution of clinical manifestations. *Medicine (Baltimore)* 90(2): 125-132, 2011

・Ideguchi H, Suda A, Takeno M, Ueda A, Ohno S, Ishigatsubo Y: Characteristics of vascular involvement in Behçet's disease in Japan: a retrospective cohort study. *Clin. Exp. Rheumatol.* 29 (4 Suppl 67):S47-53, 2011

・石ヶ坪良明、寒川整：自己炎症疾患としてのベーチェット病. *Jpn. J. Clin. Immunol.* 34(5): 408-419, 2011

研究分担者：楠原浩一

・楠原浩一：PFAPA 症候群. *Jpn. J. Clin. Immunol.* 34(5): 401-407, 2011

研究分担者：武井修治

・Koike T, Harigai M, Inokuma S, Ishiguro N, Ryu J, Takeuchi T, Takei S, Tanaka Y, Ito K, Yamanaka H: Postmarketing surveillance of tocilizumab for rheumatoid arthritis in Japan: interim analysis of 3881 patients. *Ann. Rheum. Dis.* 70(12):2148-51, 2011

・Yokota S, Imagawa T, Takei S, Murata T, Tomiita M, Itoh Y, Fujikawa S, Mori M: Guidance on using tocilizumab for juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol.*: 21 (6):563-571, 2011

・Mori M, Takei S, Imagawa T, Imanaka H, Nerome Y, Kurosawa R, Kawano Y, Yokota S, Sugiyama N, Yuasa H, Fletcher T, Wajdula JS: Etanercept in the treatment of disease-modifying anti-rheumatic drug (DMARD)-refractory polyarticular course juvenile idiopathic arthritis: experience from Japanese clinical trials. *Mod Rheumatol.* 21(6):572-578, 2011

• Takei S, Hoshino T, Matsunaga K, Sakazaki Y, Sawada M, Oda H, Takenaka S, Imaoka H, Kinoshita T, Honda S, Ida H, Fukuda TA, Aizawa H: Soluble interleukin-18 receptor complex is a novel biomarker in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 13(2):R52, 2011

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 ischaemic digits in patients with connective tissue diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 50(5): 906-10, 2011

研究分担者：井田弘明

• Arima K, Kinoshita A, Mishima H, Kanazawa N, Kaneko T, Mizushima T, Ichinose K, Nakamura H, Tsujino A, Kawakami A, Matsunaka M, Kasagi S, Kawano S, Kumagai S, Ohmura K, Mimori T, Hirano M, Ueno S, Tanaka K, Tanaka M, Toyoshima I, Sugino H, Yamakawa A, Tanaka K, Niikawa N, Furukawa F, Murata S, Eguchi K, Ida H, Yoshiura K: Proteasome assembly defect due to a proteasome subunit beta type 8 (PSMB8) mutation causes the autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108(36):14914-14919, 2011

• Shimada Y, Nishida H, Nishiyama Y, Kobayashi H, Higuchi T, Eto Y, Ida H, Ohashi T: Proteasome inhibitors improve the function of mutant lysosomal α -glucosidase in fibroblasts from Pompe disease patient carrying c.546G>T mutation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 415(2): 274-278, 2011

研究分担者：高橋裕樹

• Takano K, Yamamoto M, Kondo A, Takahashi

H, Himi T: A clinical study of olfactory dysfunction in patients with Mikulicz's disease. *Auris Nasus Larynx*. 38(3):347-51, 2011

研究分担者：藤井隆夫

• Yukawa N, Fujii T, Kondo-Ishikawa S, Yoshifuji H, Kawabata D, Nojima T, Ohmura K, Usui T, Mimori T: Correlation of antinuclear antibody and anti-double-stranded DNA antibody with clinical response to infliximab in patients with rheumatoid arthritis: a retrospective clinical study. *Arthritis Res. Ther.* 13(6): R213, 2011

• Iguchi-Hashimoto M, Usui T, Yoshifuji H, Shimizu M, Kobayashi S, Ito Y, Murakami K, Shiomi A, Yukawa N, Kawabata D, Nojima T, Ohmura K, Fujii T, Mimori T: Overexpression of a minimal domain of calpastatin suppresses IL-6 production and Th17 development via reduced NF- κ B and increased STAT5 signals. *PLoS One*. 6(10): e27020, 2011

研究分担者：田平知子

• Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchino E, Tawara A, Hayashi K, Tahira T: Mutations in the TSPAN12 gene in Japanese patients with familial exudative vitreoretinopathy. *Am. J. Ophthalmol.* 151(6): 1095-1100, 2011

研究分担者：塚本浩

• 塚本浩、上田尚靖、堀内孝彦：TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS)における診断と治療法の進歩. *Jpn. J. Clin. Immunol.* 34(5): 361-368, 2011

• 塚本浩、三苦弘喜、堀内孝彦：生物学的製剤の作用機序. *Frontiers in Rheumatology & Clinical Immunology* 5(2): 41-48, 2011

研究分担者：宮原寿明

• Maeshima K, Yamaoka K, Kubo S, Nakano K,

Iwata S, Saito K, Ohishi M, Miyahara H, Tanaka S, Ishii K, Yoshimatsu H, Tanaka Y: A KAK inhibitor tofacitinib regulates synovitis through inhibition of IFN- γ and IL-17 production by human CD4(+) T cells. *Arthritis Rheum*. 2011 Dec 6 [Epub ahead of print]

2. 学会発表

・堀内孝彦：全身性エリテマトーデスの診療－最近の進歩－. 第43回日本内科学会九州支部主催生涯教育講演会 2011年1月、福岡

・堀内孝彦：TNFとリウマチ性疾患－その病態から治療まで－. 第41回九州リウマチ学会（日本リウマチ学会九州・沖縄支部学術集会）教育講演 2011年3月19日、宮崎

・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、蓑田清次、鷺尾昌一：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

・堀内孝彦：難治性炎症性疾患の画期的治療薬－抗TNF製剤の基礎と臨床－. 第40回日本免疫学会学術集会クリニカルセミナー 2011年11月、千葉

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

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

当科へ不明熱ないし自己炎症性症候群疑いで紹介された患者について、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、Muckle-Wells症候群を2例（親子）を認めた。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となり、全身性の炎症を引き起こす。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12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1,2参照）。TNFRSF1A遺伝子変異を調べた症例は12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、臨床的にはエタネルセプトの効果を認めていた患者であったが、全症例で変異を認めなかった。CIAS1遺伝子は11例で調べたが、1例に A244A/A244A とアミノ酸配列に影響を与えないものを認め、2例（親子）で T348M/- の変異を認め、臨床症状からも Muckle-Wells 症候群と診断できた。この症例は当初ベーチェット病と診断されていた。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、Muckle-Wells 症候群2例を確定診断することができたが、TNF 受容体関連周期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、Muckle-Wells 症候群の2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200弱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。また自己炎症性症候群の中でも比較的まれな Muckle-Wells 症候群の親子を診断することができた。

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。

また今回確定診断に至った Muckle-Wells 症候群の例では、確定診断には至ったが国内で使用できる治療薬が非常に高価なカナキムマブのみであり、治療薬の導入には至らなかった。今後は国内の症例数の把握とともに、患者の治療における適応薬の拡大や医療費補助も重要な課題になってくると考えられる。

E. 結論

今回の遺伝子変異の検索では家族性地中海熱、Muckle-Wells 症候群の確定診断例を見つけることができた。今後検索範囲を広げることによって新たな変異を見つけることができる可能性はある。

G. 研究発表

1. 論文発表

石ヶ坪良明ら: 自己炎症疾患としてのベーチェット病. 日本臨床免疫学会会誌 34:408-419, 2011.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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	未検
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	未検	未検
9 男性 寒冷蕁麻疹（父）	未検	未検	なし	未検
10 男性 寒冷蕁麻疹（息子）	未検	未検	なし	未検
11 男性 発熱、筋痛、紅斑	なし	なし	未検	未検
12 男性 10代から月1の発熱	なし	なし	未検	未検
13 男性 38°Cが持続	なし	なし	未検	未検
14 女性 幼児期から発熱、蕁麻疹	未検	未検	T348M/-	未検
15 男性 14の息子 同じ症状	未検	未検	T348M/-	未検
16 男性 肩関節痛と発熱	なし	なし	未検	未検

自己炎症性疾患の診断・鑑別のためのスクリーニング検査に関する研究

研究分担者 武井修治 鹿児島大学医学部保健学科 教授
研究協力者 山崎雄一 鹿児島大学医歯学総合研究科 大学院生

研究要旨

自己炎症性疾患が疑われる症例において、血清サイトカインや蛋白のプロフィールを評価することが、遺伝子検査前のスクリーニング検査として有用かを検討した。

遺伝子変異が確定した FMF 4 例、TRAPS 1 例、CAPS 1 例、EOS/Blau 症候群 7 例と、遺伝子変異が未確定だが日常診療で遭遇することの多い s-JIA 19 例、PFAPA 4 例を対象に、それぞれの活動期および寛解期（間欠期）の血清中の血清蛋白・サイトカインプロファイルを、IL-6、S100A12、IL-18、VEGF で検討した。

その結果、IL-6 は各疾患群間で有意な差異はみられなかったが、S100A12、IL-18、VEGF は、各疾患毎に疾患活動性に応じて特徴のある変化を示した。また、FMF ではコルヒチンに対する反応性で異なった変化がみられた。

以上から、自己炎症性疾患の血清検体から S100A12、IL-18、VEGF のプロファイルを検討することは、その鑑別や遺伝子検査前のスクリーニング検査として有用である可能性が示唆された。

Key word: FMF, TRAPS, CAPS, EOS/Blau, S100A12, VEGF, IL-18

A. 研究の背景と目的

遺伝子変異が確認された自己炎症性疾患として、家族性地中海熱(FMF)、TNF 受容体関連周期熱症候群(TRAPS)、クリオピリン関連周期熱症候群(CAPS)、早期発症サルコイドーシス/Blau 症候群(EOS/Blau)、高IgD 症候群(HIDS)などがある。しかし類似した臨床像を呈しても遺伝子変異を確認できない症例も存在し、最近では遺伝子変異細胞が 5%程度のモザイク状況でも、同等の臨床像を示すことが CAPS で報告された(Saito M, Blood 2008)。その一方で、日常診療でしばしば遭遇する若年性特発性関節

炎全身型(s-JIA)や PFAPA (periodic fever with aphthous, pharyngitis and adenitis) では、その病因となる遺伝子変異は未だに確定されていない。

加えて、小児科診療における臨床現場での自己炎症性疾患に対する認知度も十分なものではない。その結果、不明熱や関節炎患者の紹介を受ける機会の多い当科の小児リウマチ外来では、これまで TRAPS 3 例、FMF 3 例、EOS 7 例、CAPS 2 例等の自己炎症性疾患を診断してきたが、s-JIA として加療されていた例が多く、診断に至るまでに長い期間が費やされていた。