

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

NOD2 変異に関連した全身性炎症性肉芽腫性疾患（ブラウ症候群/
若年発症サルコイドーシス）の診療基盤推進に関する研究

分担研究報告書 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

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

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスは皮疹、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。本年度も引き続き、本症を疑われて全国から問い合わせのあった11症例の遺伝子解析を行った。11症例中、2例に遺伝子変異を認め、p.Arg587Cys, p.Arg334Trp それぞれ1例ずつ同定された。いずれも *in vitro* の293T細胞での強制発現系において、NF- κ B の活性化を認め、これまで同定されたいずれの変異も *in vitro* の293T細胞での強制発現系において、NF- κ B の活性化を確認できたことから、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。

研究協力者

小原 収・かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部 部長

A. 研究目的

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスは皮疹、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。

分担研究者はブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスにおける NOD2 遺伝子変異について検討してきたが、今回さらに同症候群疑い11症例の遺伝子解析を行い、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

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス患者の全血/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、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院 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-432）。その内容を忠実に順守して研究を行っている。

表 1 本邦ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス症例の NOD2 遺伝子型

変異	症例数	%
p.Arg334Trp	11	36.7
p.Arg587Cys	5	16.7
p.Arg334Gln	4	13.3
p.Glu383Gly	2	6.7
p.Asp382Glu	1	3.3
p.Gly481Asp	1	3.3
p.Cys495Tyr	1	3.3
p.His496Leu	1	3.3
p.Met513Thr	1	3.3
p.Thr605Pro	1	3.3
p.Asn670Lys	1	3.3
p.Glu498Val, 499-500del	1	3.3
計	30	100

C. 研究結果

11 症例中、2 例に遺伝子変異を認め、p.Arg587Cys, p.Arg334Trp それぞれ 1 例ずつ同定された。いずれも in vitro の 293T 細胞での強制発現系において、NF-κB の活性化を認め、これまで同定されたいずれの変異も in vitro の 293T 細胞での強制発現系において、NF-κB の活性化を確認できた。

今回の 2 症例を加え、本研究で得られた変異のまとめをしめすと、p.Arg334Trp 11 例、p.Arg587Cys 5 例、p.Arg334Gln 4 例、p.Glu383Gly は 2 症例認めた。p.Asp382Glu, p.Gly481Asp, p.Cys495Tyr, p.His496Leu, p.Met513Thr, p.Thr605Pro, p.Asn670Lys, 6 塩基欠失変異 (p.Glu498Val, 499-500del) はいずれも 1 症例ずつであった。(表 1)。

D. 考察

本邦における遺伝子変異の検討では、p.Arg334Trp が最多で 36.7%, p.Arg587Cys が

16.7%, p.Arg334Gln が 13.3%であった。International registry においては p.Arg334Trp, p.Arg334Gln がいずれも 40%を占めており、本邦においては p.Arg334Gln 変異が少なく、1 例報告である変異が多数存在する傾向は昨年同様みられた。

全ての遺伝子型においてリガンド非依存性 NF-κB 活性化増加を認めることより、NOD2 変異の疾患特異的な性質としてリガンド非依存性 NF-κB 活性化増加が重要であることを再確認した。

E. 結論

NOD2 変異を同定できたブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス本邦 30 症例における NOD2 遺伝子型を集計した。疾患特異的な NOD2 変異の性質として、リガンド非依存性 NF-κB 活性化増加が重要であることが再確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mizuno T, Sakai H, Nishikomori R, Oshima K, Ohara O, Hata I, Shigematsu Y, Ishige T, Tamura K, Arakawa H. Novel mutations of MVK gene in Japanese family members affected with hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Rheumatol Int.* (in press)

2. Kawai T, Saito M, Nishikomori R, Yasumi T, Izawa K, Murakami T, Okamoto S, Mori Y, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yachie A, Ohmori K, Nakahata T, Heike T. Multiple Reversions of an IL2RG Mutation Restore T cell Function in an X-linked Severe Combined Immunodeficiency Patient. *J*

Clin Immunol. (in press)

3. Aoyama K, Amano H, Takaoka Y, Nishikomori R, Ishikawa O. Cryopyrin-associated Periodic Syndrome: A Case Report and Review of the Japanese Literature. *Acta Derm Venereol.* (in press)
4. Tanaka N, Izawa K, Saito MK, Sakuma M, Oshima K, Ohara O, Nishikomori R, Morimoto T, Kambe N, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, de Saint Basile G, Neven B, van Gijn M, Frenkel J, Aróstegui JI, Yagüe J, Merino R, Ibañez M, Pontillo A, Takada H, Imagawa T, Kawai T, Yasumi T, Nakahata T, Heike T. High incidence of NLRP3 somatic mosaicism in patients with chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome: Results of an international multicenter collaborative study. *Arthritis Rheum.* 2011;63:3625-32.
5. Sakai H, Okafuji I, Nishikomori R, Abe J, Izawa K, Kambe N, Yasumi T, Nakahata T, Heike T. The CD40-CD40L axis and IFN- γ play critical roles in Langhans giant cell formation. *Int Immunol.* 2012;24: 5-15.
6. Ohnishi H, Teramoto T, Iwata H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Nishikomori R, Kaneko H, Seishima M, Kondo N. Characterization of NLRP3 variants in Japanese cryopyrin-associated periodic syndrome patients. *J Clin Immunol.* 2012;32:221-9.
7. Adachi M, Watanabe A, Nishiyama A, Oyazato Y, Kamioka I, Murase M, Ishida A, Sakai H, Nishikomori R, Heike T. Familial cases of periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome. *J Pediatr.* 2011;158:155-9.
8. Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K, Saito M, Nishikomori R, Ohara O, Ishii E, Nakahata T, Horiuchi H, Heike T. Rapid diagnosis of FHL3 by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein. *Blood.* 2011; 118:1225-30.
9. Tahara M, Sakai H, Nishikomori R, Yasumi T, Heike T, Nagata I, Inui A, Fujisawa T, Shigematsu Y, Nishijima K, Kuwakado K, Watabe S, Kameyama J. Patient with neonatal-onset chronic hepatitis presenting with mevalonate kinase deficiency with a novel MVK gene mutation. *Mod Rheumatol.* 2011;21: 641-5.
10. Mizukami T, Obara M, Nishikomori R, Kawai T, Tahara Y, Sameshima N, Marutsuka K, Nakase H, Kimura N, Heike T, Nunoi H. Successful treatment with infliximab for inflammatory colitis in a patient with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency. *J Clin Immunol.* 2012;32:39-49.
11. Ishimura M, Takada H, Doi T, Imai K, Sasahara Y, Kanegane H, Nishikomori R, Morio T, Heike T, Kobayashi M, Ariga T, Tsuchiya S, Nonoyama S, Miyawaki T, Hara T. Nationwide survey of patients with primary immunodeficiency diseases in Japan. *J Clin Immunol.* 2011;31:968-76.
12. Imamura M, Kawai T, Okada S, Izawa K, Takachi T, Iwabuchi H, Yoshida S, Hosokai R, Kanegane H, Yamamoto T, Umezu H, Nishikomori R, Heike T, Uchiyama M, Imai C. Disseminated BCG infection mimicking metastatic nasopharyngeal carcinoma in an immunodeficient child with a novel hypomorphic NEMO mutation. *J Clin Immunol.* 2011;31:802-10.
13. Izawa K, Hijikata A, Tanaka N, Kawai T, Saito MK, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, Yasumi T, Nakahata T, Heike T, Nishikomori R, Ohara O. Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing. *DNA Res.* 2012;19: 143-52.
14. Hiejima E, Komatsu H, Takeda Y, Sogo T, Inui A, Okafuji I, Nishikomori R, Nakahata T, Fujisawa T. Acute liver failure in young children with systemic-onset juvenile

idiopathic arthritis without macrophage activation syndrome: report of two cases. *J Paediatr Child Health*. 2012;48:E122-5.

2. 学会発表

国際学会

1. Izawa K, Hijikata A, Nishikomori R, Ohara O, Abe J, Tanaka N, Saito MK, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, Kawai T, Yasum T, Nakahata T, Heike T. Diagnosis of NLRP3 somatic mosaicism in CINCA/NOMID patients using next-generation sequencing. (*18th European Pediatric Rheumatology Congress*, September 14-18, 2011. Bruges, Belgium)

2. Nishikomori R, Tanikaze N, Izawa K, Saito MK, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, de Saint Basile G, Neven B, Frenkel J, Van Gijn M, Arostegui IJ, Yague J, Morimoto T, Sakuma M, Kambe N, Yasumi T, Kawai T, Pontillo A, Oshima K, Takada H, Imagawa T, Merino R, Ibanez M, Nakahata T, Heike T, Ohara O. High incidence of nlrp3 somatic mosaicism in chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome patients: a report from an international multicenter collaborative study. (*Annual European Congress of Rheumatology EULAR 2011*, May 25-28, 2011. London, UK)

国内学会

1. 井澤和司, 西小森隆太, 八角高裕, 平家俊男, 土方敦司, 小原収. Rapid detection of NLRP3 somatic mosaicism using next-generation sequencing (第56回日本人類遺伝学会・第11回東アジア人類遺伝学会共同大会, 2011年11月9-12日, 千葉市)

2. 田中尚子, 井澤和司, 斎藤潤, 作間未織, 大嶋宏一, 小原収, 西小森隆太, 森本剛, 中畑龍俊, 平家俊男. NLRP3 体細胞モザイクは CINCA 症候群の 25% 以上に認められる (第114回日本小児科学会学術集会, 2011年8月12-14日, 東京)

3. 田中尚子, 井澤和司, 西小森隆太, 神戸直智, 河合朋樹, 酒井秀政, 八角高裕, 平家俊男. NLRP3 体細胞モザイクは CINCA 症候群の 25% 以上に認められる (第55回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011年7月17-20日, 神戸市)

G. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

NOD2 変異に関連した全身性炎症性肉芽腫性疾患（ブラウ症候群/
若年発症サルコイドーシス）の診療基盤推進に関する研究

分担研究報告書 3

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの関節炎病態
— 手根骨長 Carpal length による関節破壊の評価

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

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス（Blau/EOS）にみられる関節炎は、発症早期からほぼ全例で出現して持続し、またその慢性期には、JIA/RA のボタンホール変形様に指趾 PIP 関節が屈曲してくることから、JIA と誤診される例が多い。しかし、Blau/EOS の関節 Xp 画像では破壊像はみられず、屈曲した PIP 関節には明確な可動域制限がみられないことから、臨床的には関節破壊がないことが想定される。

そこで、当科で長期経過観察してきた Blau/EOS 6 例を対象に、Xp 画像から手根骨長（carpal length, CL）を経時的に測定し、関節破壊の有無やその進行を CL の変化（短縮）で客観的に評価し、破壊性関節炎を中核病態とする多関節型 JIA 46 例と比較した。その結果、Blau/EOS では、関節炎が遷延し PIP 関節の屈曲が出現しても CL の短縮がみられず、関節破壊はないものと思われた。一方、対照疾患とした多関節型 JIA では CL の短縮がみられ、特に RF 陽性多関節型では、RF 陰性例と比べて経過とともに急速な CL 短縮がみられた。

以上から、Blau/EOS の関節炎は、経過が遷延しても関節内構造に破壊はみられず、JIA の破壊性進行性の関節炎とは異なる病態であることが明らかとなった。したがって、Blau/EOS の診断基準の項目として、関節破壊を欠く特異な指趾 PIP 関節屈曲を加えることで診断特異性が高まり、誤診されやすい JIA の除外が可能である。

研究協力者

久保田知洋・鹿児島大学医歯学総合研究科 医員

山崎雄一・鹿児島大学医歯学総合研究科大学院生

山遠 剛・鹿児島大学医学部歯学部附属病院 医師

A. 研究目的

本研究班の目的は、ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス（Blau/EOS）の診療基盤の開発である。そこで昨年度は、NOD2 遺伝子変異を確認して Blau/EOS と診断した当科の 7 例において、診断確定前からの長期の経過観察（平均観察期間 10.9 年）中にみられた臨床像から、その時間軸で診断に有用な臨床像を検討した。その結果、臨床所見としては、

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(PIP関節)の屈曲, 4)自己抗体陰性が全例にみられ, 上記1)~4)に加えて, ぶどう膜炎, 弛張熱, 皮疹がある例は, Blau/EOS の可能性が高いことを報告した。特に関節炎は, 発症時から全例で出現しており, 本邦報告例でも 19/20 例に認められていたことから (Okafuji I, et al. *Arthritis Rheum* 2009), Blau/EOS の中核病態と思われた。さらに Blau/EOS の指趾関節にみられる特異な肢位(PIP 屈曲, DIP 伸展)は, 若年性特発性関節炎(JIA)にみられるボタンホール変形と類似しており, 実際にも当科で Blau/EOS と確定されるまでの前医の診断は全例が JIA であった。しかしながら Blau/EOS では, JIA とは異なって関節可動域の制限はなく, あっても軽微である。またレントゲン写真(Xp)による評価でも, Blau/EOS では関節炎が長期間持続し, 手指や足趾がボタンホール変形様の肢位となっても, 関節裂隙の狭小化や骨びらんなどの破壊像を骨・関節に認めない。

以上から, 指趾に屈曲変形を認めても関節可動域は正常であり, 構造的な破壊性関節病変を欠くことが Blau/EOS の関節炎の特徴と思われる。また, この概念を診断基準に加えることで診断の特異性が高まることが想定されるが, そのためには, EOS の構造的な関節破壊の有無や程度を, 客観的に評価する方法が必要である。

JIA や成人関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) における関節破壊は, まず関節周囲の軟骨から破壊が始まるが, その変化は Xp 画像上では直接的には証明できず, 関節裂隙の狭小化として反映される。次いで破壊が骨実質へ進行して, 初めて骨びらんという形で Xp 画像上に描出される。

これら関節裂隙狭小化や骨びらんをスコア化したものを指標に, 手・足部の Xp 画像から客観的に関節破壊を評価するのが, RA で汎用されている modified Sharp Score である。一方, Blau/EOS では, JIA/RA と同様に関節炎の好発部位は手・足部の関節であるが,

発達段階にある小児では, 関節裂隙や骨の形態は年齢で大きく変化するため, modified Sharp Score で評価することはできない。

そこで, われわれは手根骨長 (carpal length, CL) に着目し, EOS の関節破壊を客観的に評価することを試みた。健康な小児では, この CL は年齢や成長とは無関係に第 2 中手骨長との間に一定の有意な相関があることが Poznanski らにより報告され (*Radiology* 1978), その後この CL を測定して, JIA に対する治療薬の関節破壊抑止効果や (Harel L, et al. *Arthritis Rheum* 2003), JIA の関節破壊因子の検討 (Magni-Manzoni S, et al. *Arthritis Rheum* 2003) などが既に報告されている。

B. 研究方法

1. 対象 (表 1)

NOD2 変異が証明され, 当科で長期経過観察中の Blau/EOS の 7 症例のうち, CL の継続的な評価が可能であった 6 例を対象とした。また, 比較のための対照疾患を, 破壊性関節炎を中核病態とする多関節型 JIA としたが, 研究対象の Blau/EOS の 6 例中 5 例が生物学的製剤で治療していたことから (infixiamb 4 例, adalimumab 1 例), 生物学的製剤で治療中の多関節型 JIA 46 例を対照群とした。

表 1 : 患者プロフィール

	EOS	JIA*
症例	6	46
男 : 女	3 : 3	9 : 37
罹病期間(y)		
初回評価	5.2±3.7	1.3±1.4
最終評価	12.8±5.36	6.1±4.3
観察期間		
	9.2±5.3	5.0±4.1

*RF 陽性多関節型 36,
RF 陰性多関節型 10

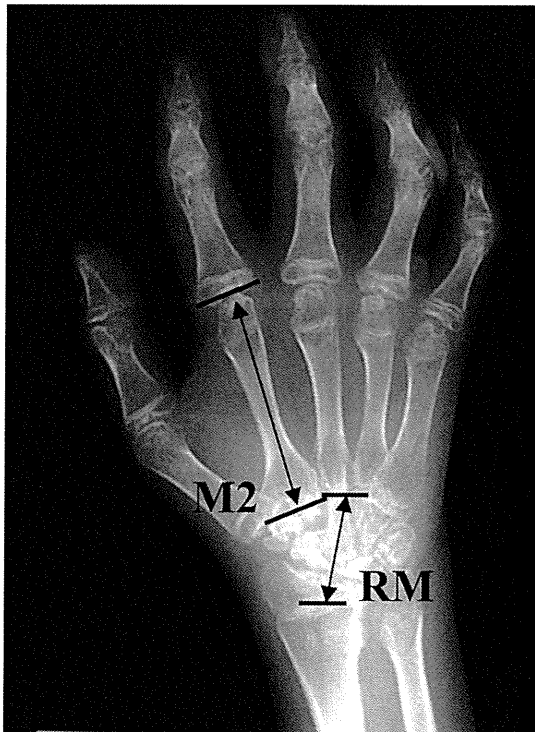


図 1 : 手根骨長の測定法 手 Xp から、第 2 中手骨長 (M2) と第 3 中手骨の近位端から橈骨成長板中点までの距離 (RM) を測定する。JIA などの破壊性関節炎があれば RM は短縮するが M2 は影響を受けない。そこで一次相関式で M2 から RM 予測値を計算し、実際の RM 測定値との差を関節破壊の結果として、標準偏差 (SD) で評価する。

2. 手根骨長の測定方法 (図 1)

経過中に撮像された X 線フィルムを用いて手根骨長 CL を評価した。

測定は Poznanski らの方法に従い、得られた手関節 X 線画像から、第 3 中手骨の近位端から橈骨成長板中点までの距離 (RM) と第 2 中手骨の最大長 (M2) を測定した。

健康小児では、RM と M2 との間に有意な一次相関があり、その相関式は男児で $RM=0.406 \times M2 + 13.59$ 、女児で $RM=0.348 \times M2 + 14.10$ である (Poznanski, et al. *Radiology* 1978)。一方、JIA にみられる破壊性関節炎病態では、RM は手根骨の軟骨や骨

破壊により短縮するが、中手骨である M2 は影響を受けない。そこで、対象および対照群の RM 実測値と、M2 から算出される RM の予測値との差を標準偏差 SD として解析し、CL (SD) として評価した。

C. 研究結果

1. Blau/EOS の CL

発症からの CL 評価までの罹病期間で、Blau/EOS 6 例で CL (SD) の変化を検討した (図 2)。また比較のために対照群とした JIA 46 例は、リウマトイド因子 (RF) 陽性多関節型 (36 例) と、RF 陰性多関節型 (10 例) に分けて検討した。

その結果、EOS では、罹病期間にかかわらずほぼ正常域 ($\pm 2SD$) 内で推移し (回帰係数 -0.052), CL の短縮はみられず、罹病期間と CL (SD) との間には有意な相関は得られなかった ($R=0.233, p=0.0930$)。一方、対照群の JIA の CL (SD) は、RF 陽性多関節型では罹病期間とともに急激に低下し (回帰係数 -0.145), 罹病期間との間に有意な負の相関を認めた ($R=0.228, P=0.0018$)。また、RF 陰性多関節型でも同様に有意な負の相関がみられたが ($R=0.347, P=0.0082$)、その程度や CL の短縮は RF 陽性多関節型と比べて緩徐であった (回帰係数 -0.093)。

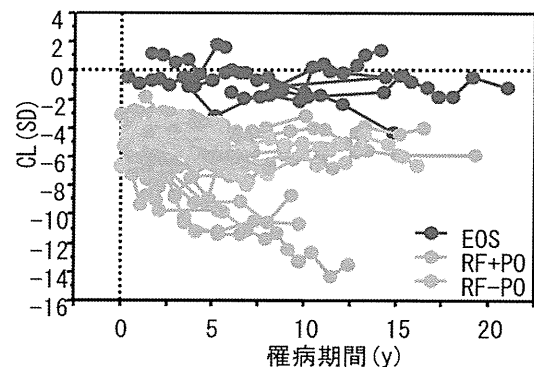


図 2 : 経過中の CL(SD) の変化 Blau/EOS では、関節炎が遷延しても CL は正常域 ($\pm 2SD$) を維持したが、JIA では特に RF 陽性多関節型 (RF+PO) で低下した。

そこで、罹病期間を年単位で区切り、CL (SD) を3群間で比較した(図3)。その結果、CL (SD) はEOS では $\pm 2SD$ 内で変動して正常域内を維持し、CL (SD) が低下していくJIA に対して罹病期間1年($P=0.0193$), 2年($P=0.0203$), 3年($P=0.0056$), 4年($P=0.0232$), 5年($P=0.0060$), 6年($P=0.0262$), 8年($P=0.0087$), 10年($P=0.0201$) で有意差を認めた。

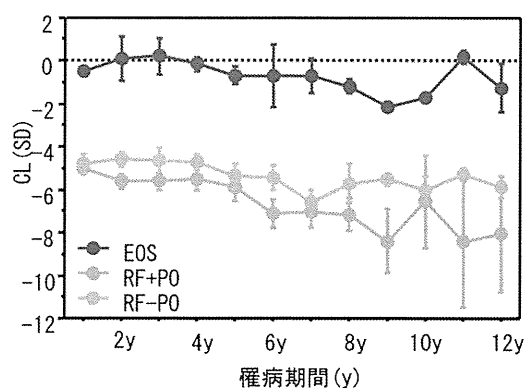
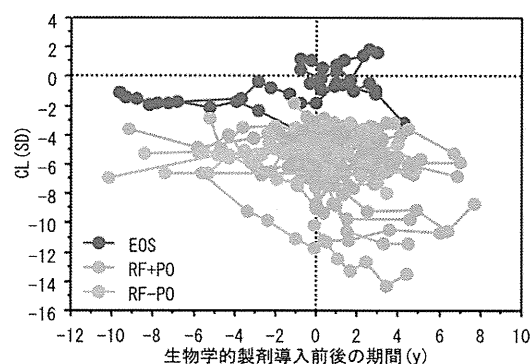


図3: 経過中のCL(SD)の変化 経過中のCL (SD) 変化を年単位で比較すると、Blau/EOS のCL (SD) はJIA と有意差を認めた。

2. 生物学的製剤の影響 (図4)

今回の解析では、対象としたEOS 6例中5例が生物学的製剤で治療を受けていたことから、比較したJIA 患者も生物学的製剤で治療された症例で解析した。したがって、Blau/EOS とJIA のCL (SD) の変化の違いは、生物学的製剤のもつ関節破壊抑止効果の違いを反映した可能性がある。そこで、生物学的製剤の導入時をゼロとし、その前後の経過時間でCL (SD) の変化を検討した。

その結果、Blau/EOS では、生物学的製剤導入以前にもCL (SD) の低下傾向はなく、抗炎症作用を目的に投与した生物学的製剤導入後にも変化はみられなかった。一方JIA では、特にRF陽性多関節型では導入までにCL (SD) が低下する例が多く、導入後にCL



(SD) が回復する例がみられた。

図4: 生物学的製剤導入前後のCL(SD)の変化 EOS のCL (SD) は、生物学的製剤導入前後で変化はなかった。一方JIA では、導入前のCL (SD) は低く、特にRF陽性多関節型(RF+PO) で経過とともに低下する例が多かったが、生物学的製剤導入後に回復する例がみられた。

D. 考察

以上の解析から、Blau/EOS ではJIA のような関節破壊がないこと、また経過が遷延しても関節破壊が進行しないことが明らかとなった。

CL (SD) 測定で評価しうる関節破壊は、手根骨を中心とした手関節に限られるが、対象としたEOS 6例はいずれも経過中に手関節に臨床的な関節炎がみられ、嚢腫状腫脹が手背に持続性あるいは反復性にみられた症例である。また、2012年3月に4例で実施された関節エコー検査では、手関節の関節滑膜については3例で肥厚が、1例で血流シグナルが認められた。したがって、Blau/EOS の関節炎は、JIA の破壊性関節炎といった特徴を持つ関節炎とは異なった病態であることが推定された。

また、Blau/EOS のPIP 関節は、JIA/RA のボタンホール変形と類似した肢位となるが、可動域制限は伴わず、あっても軽度である。また、Xp 画像による評価でも、関節裂隙は

正常に保たれ、骨びらんもなく関節面も整である。このことは、PIP 関節には関節破壊がないことを示唆しており、PIP 関節近傍で評価した CL (SD) にも低下がないことから明らかであろう。恐らくは、CL (SD) が評価しうる軟骨や骨以外の関節構造物、具体的には腱鞘炎とその短縮によるものと推定している。

その一方で、JIA 多関節における CL (SD) の変化から、RF 陽性例では陰性例と比べて急速に関節破壊が進行することが明らかとなった。これまでの多くの報告が RF を関節型 JIA における関節予後不良因子として報告してきたが、CL (SD) がそれを経時的に客観的に証明しうるということが、あらためて明らかになった。

E. 結論

Blau/EOS の関節炎は、経過が遷延して指趾 PIP 関節が屈曲しても、CL (SD) で評価可能な関節軟骨や骨などの関節内構造に破壊はみられない。したがって、Blau/EOS の診断基準の策定にあたっては、関節破壊を欠く特異な PIP 屈曲を加えることで特異性を高め、誤診されやすい JIA の除外に有用であろう。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 武井修治. Autoinflammation. 炎症と免疫. 2011;19:645-7.

2. 学会発表

国際学会

1. Yamasaki Y, Kubota T, Nerome Y,

Nonaka Y, Akaike H, Takezaki T, Imanaka H, Kawano Y, Takei S. Measuring S100A12 and vascular endothelial growth factor can differentiate familial Mediterranean fever and early-onset sarcoidosis from systemic juvenile idiopathic arthritis. (*American College of Rheumatology*, November 4-9, 2011. Chicago, USA)

国内学会

1. 上田尚靖, 塚本浩, 石ヶ坪良明, 楠原浩一, 武井修治, 蓑田清次, 鷺尾昌一, 井田弘明, 高橋裕樹, 藤井隆夫, 田平知子, 大田俊一郎, 田中淳, 藤健太郎, 古川牧緒, 井上靖, 有信洋二郎, 新納宏昭, 赤司浩一, 堀内孝彦. TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の全国実態調査 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011 年 7 月 17-20 日, 神戸市)

2. 山崎雄一, 久保田知洋, 野中由希子, 赤池治美, 根路目安仁, 嶽崎智子, 今中啓之, 武井修治. 全身型若年性特発性関節炎と他の自己炎症性疾患との鑑別 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011 年 7 月 17-20 日, 神戸市)

3. 久保田知洋, 山崎雄一, 野中由希子, 赤池治美, 根路目安仁, 嶽崎智子, 今中啓之, 武井修治. 単一施設で診断した自己炎症疾患 13 例 (遺伝子変異確定) の臨床的検討 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011 年 7 月 17-20 日, 神戸市)

H. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

NOD2 変異に関連した全身性炎症性肉芽腫性疾患（ブラウ症候群/
若年発症サルコイドーシス）の診療基盤推進に関する研究

分担研究報告書 4

関節エコーによるブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスにおける
関節病変の病態解析

研究分担者 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

研究要旨

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの関節病変の病態を明らかとし、関節変形を予防する治療介入戦略の基盤を構築するため、鹿児島大学病院小児診療センター小児リウマチ膠原病外来で外来加療されている遺伝子診断の確定している4症例を関節エコーで網羅的に評価した。その結果、本疾患の関節病変の主体が腱鞘滑膜炎であることが確認され、特に手関節および足関節では非常に高頻度に腱鞘滑膜炎を認めることが示された。一方、炎症が回避される腱鞘滑膜部位があること、また明らかな活動性を伴う関節滑膜炎も散見されることが分かった。さらに、患児全体の滑膜炎の疾患活動性は DAS28-ESR のような composite score に反映されること、その一方で個々の関節部位の病変を診察で正確に評価することは困難であることが示唆された。関節変形を防ぐためのより細やかな治療戦略の構築し、また本疾患の特徴的な関節病態を解明するためには、関節エコーによる詳細な病態評価が有用と考えられた。今後より多くの症例の蓄積、経時的变化の解析が必要である。

A. 研究目的

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスは皮疹、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。本疾患における関節炎は腱鞘滑膜炎によるものとされているが、その詳細な病態、関節予後、ならびに治療介入の有用性は未だ不明である。

近年関節リウマチに代表される炎症性関節疾患における超音波検査（関節エコー）が進歩し、特に安静や放射線被爆が問題となる小児の関節疾患においてその有用性が注目されている。そこで本研究では、関節エコーを用いてブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの関節病変の病態を明らかとし、関節

変形を予防する治療介入戦略の基盤を構築することを目的とした。

B. 研究方法

鹿児島大学病院小児診療センター小児リウマチ膠原病外来で外来加療されている遺伝子診断の確定している4症例を関節エコーで網羅的に評価した。部位は40関節部位における50滑膜部位を評価し、それぞれのグレースケール（GS）滑膜炎と滑膜パワードプラ（PD）シグナルを半定量的（グレード0-3）に評価した。超音波機器は日立メディコ社 HI VISION Ascendus、探触子はリニア型マルチ周波数プローブを使用した。

表 1:4 症例の各関節部位におけるグレースケール滑膜炎スコア

部位	方向	部位 詳細	症例 1		症例 2		症例 3		症例 4	
			右	左	右	左	右	左	右	左
手指	背側	PIP1	0	0	0	0	1	1	0	0
		PIP2	0	0	0	1	3	3	1	1
		PIP3	0	0	0	0	3	3	1	0
		PIP4	0	0	1	0	2	3	0	0
		PIP5	0	0	1	1	2	2	1	0
		MCP1	0	0	0	0	1	2	0	0
		MCP2	0	0	0	0	2	3	0	0
		MCP3	0	0	0	0	2	3	0	1
		MCP4	0	0	0	0	2	3	0	0
	MCP5	0	0	0	0	2	2	0	0	
	掌側	FT1	0	1	0	0	1	1	0	0
		FT2	2	2	0	0	1	1	0	0
		FT3	1	2	0	0	2	1	0	1
FT4		2	1	0	0	2	1	0	0	
FT5		3	2	0	0	2	1	0	0	
手首	背側	RC	0	0	0	0	1	1	1	0
		IC	0	0	0	0	1	1	0	0
		DRU	0	0	0	0	2	1	0	0
	背側	C2	1	0	3	1	2	3	0	1
		C4	2	1	1	2	2	2	1	0
		C6	1	1	0	1	1	2	1	1
	掌側	FTs	0	0	0	0	0	0	0	0
肘	屈側	HR	1	0	3	2	0	0	0	0
	HU	0	0	2	2	0	1	0	0	
伸側	OF	0	0	2	2	1	1	0	0	
肩	前面	LHB	1	2	0	0	0	1	0	0
	側面	SDB	0	0	2	2	0	0	0	0
	背面	GH	0	0	0	0	0	0	0	0
膝	伸側	SPP	0	0	3	3	1	0	0	0
	内側	Med	0	1	2	2	1	0	0	0
	外側	Lat	0	1	3	3	1	1	0	0
足首	伸側	TT	0	0	0	0	0	0	1	0
	伸側	MT	0	0	0	0	0	0	0	0
	伸側	EDL	3	2	2	0	2	2	0	1
		EPL	0	3	1	1	0	1	0	0
		TA	1	0	2	0	2	3	0	0
	内側	TP	1	1	2	2	2	2	0	1
FDL		0	0	2	1	2	1	0	0	

外側	PL	1	0	1	1	2	2	0	0	
	PB	1	0	1	1	2	2	1	0	
足趾	背側	MTP1	0	0	0	0	1	1	0	0
		MTP2	0	0	0	0	1	0	0	0
		MTP3	0	0	0	0	1	0	0	0
		MTP4	0	0	0	0	0	0	0	0
		MTP5	0	0	0	0	0	0	0	0
	底側	FT1	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT2	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT3	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT4	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT5	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2:4 症例の各関節部位における滑膜パワードプラシグナルスコア

部位	方向	部位 詳細	症例 1		症例 2		症例 3		症例 4	
			右	左	右	左	右	左	右	左
手指	背側	PIP1	0	0	0	0	1	1	0	0
		PIP2	0	0	0	1	3	3	1	1
		PIP3	0	0	0	0	3	3	1	0
		PIP4	0	0	1	0	2	3	0	0
		PIP5	0	0	1	1	2	2	1	0
		MCP1	0	0	0	0	1	2	0	0
		MCP2	0	0	0	0	2	3	0	0
		MCP3	0	0	0	0	2	3	0	1
		MCP4	0	0	0	0	2	3	0	0
	MCP5	0	0	0	0	2	2	0	0	
	掌側	FT1	0	1	0	0	1	1	0	0
		FT2	2	2	0	0	1	1	0	0
		FT3	1	2	0	0	2	1	0	1
FT4		2	1	0	0	2	1	0	0	
FT5		3	2	0	0	2	1	0	0	
手首	背側	RC	0	0	0	0	1	1	1	0
		IC	0	0	0	0	1	1	0	0
		DRU	0	0	0	0	2	1	0	0
	背側	C2	1	0	3	1	2	3	0	1
		C4	2	1	1	2	2	2	1	0
		C6	1	1	0	1	1	2	1	1
	掌側	FTs	0	0	0	0	0	0	0	0
肘	屈側	HR	1	0	3	2	0	0	0	0
	HU	0	0	2	2	0	1	0	0	
伸側	OF	0	0	2	2	1	1	0	0	
肩	前面	LHB	1	2	0	0	0	1	0	0
	側面	SDB	0	0	2	2	0	0	0	0

	背面	GH	0	0	0	0	0	0	0	0
膝	伸側	SPP	0	0	3	3	1	0	0	0
	内側	Med	0	1	2	2	1	0	0	0
	外側	Lat	0	1	3	3	1	1	0	0
足首	伸側	TT	0	0	0	0	0	0	1	0
	伸側	MT	0	0	0	0	0	0	0	0
	伸側	EDL	3	2	2	0	2	2	0	1
		EPL	0	3	1	1	0	1	0	0
		TA	1	0	2	0	2	3	0	0
	内側	TP	1	1	2	2	2	2	0	1
		FDL	0	0	2	1	2	1	0	0
	外側	PL	1	0	1	1	2	2	0	0
PB		1	0	1	1	2	2	1	0	
足趾	背側	MTP1	0	0	0	0	1	1	0	0
		MTP2	0	0	0	0	1	0	0	0
		MTP3	0	0	0	0	1	0	0	0
		MTP4	0	0	0	0	0	0	0	0
		MTP5	0	0	0	0	0	0	0	0
	底側	FT1	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT2	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT3	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT4	0	0	0	0	0	0	0	0
		FT5	0	0	0	0	0	0	0	0

太字: 腱鞘滑膜を評価

0, 正常; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, 高度

FT, 屈筋腱; C, 腱区画; LHB, 上腕二頭筋長頭; EDL, 長趾伸筋; EPL, 長拇指伸筋; TA, 前脛骨筋; TP, 後脛骨筋; FDL, 長趾屈筋; PL, 長腓骨筋; PB, 短腓骨筋。

C. 研究結果

4 症例の各関節部位におけるグレースケール滑膜炎および滑膜パワー Doppler シグナルのスコアを、それぞれ表 1 および表 2 に示す。

表に示されるように、全例手関節および足関節に腱鞘滑膜炎を認めた。また手指屈筋腱も高頻度に腱鞘滑膜炎を認めた。一方、手関節屈筋腱群あるいは足趾の屈筋腱に腱鞘滑膜炎の所見を認める例は認めな

かった。図 1 に症例 3 で認められた典型的な手関節の腱鞘滑膜炎像を示す。グレースケールにて等エコー輝度の滑膜肥厚および無エコーの滑液貯留を認め、パワー Doppler モードにて滑膜肥厚に一致する強い滑膜血流シグナルを認めた。

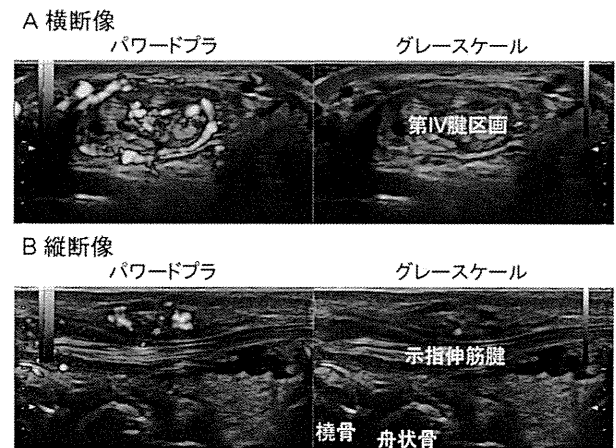


図 1: 症例 3 の手関節で認められた典型的な腱鞘滑膜炎

腱鞘滑膜炎と比較すると頻度は低く、症例によって罹患部位に大きな差があるが、関節滑膜炎も全例で認められた。特に症例 2 の肘および膝、症例 3 の手指では強い滑膜血流シグナルを伴う関節リウマチ同様の関節滑膜炎を認めた。腱鞘滑膜炎、関節滑膜炎ともに左右対称性である傾向があった。

次に、関節エコー所見と従来の関節炎評価方法である DAS28 との相関を図 2 に示す。

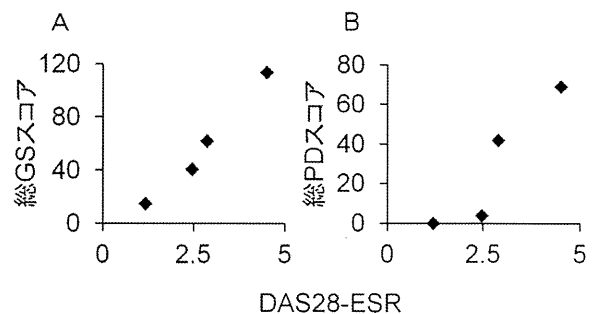


図 2: 関節エコー総スコアと DAS28-ESR の相関

少数の解析ではあるものの、DAS28-ESRと総GSスコア/総PDスコアは良好に相関することが示された（総GSスコア R=0.99, P<0.001; 総PDスコア R=0.92, P<0.001）。これによりブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの患児全体としての滑膜病変は、DAS-ESRにより評価可能であることが示された。

次に、関節レベルにおいて診察所見と関節エコーを比較した（表3,4）。

表3：全ての関節における診察所見とグレースケール滑膜炎スコアの比較

		診察上の関節所見		合計
		なし	あり	
GS 滑膜炎	なし	81 (50.6%)	0 (0.0%)	81 (50.6%)
	あり	64 (0.0%)	15 (9.4%)	79 (49.4%)
合計		125 (90.6%)	15 (9.4%)	160 (100%)

表4：全ての関節における診察所見と滑膜パワードプラススコアの比較

		診察上の関節所見		合計
		なし	あり	
滑膜PD シグナル	なし	94 (58.8%)	0 (0.0%)	94 (58.8%)
	あり	64 (17.5%)	38 (23.7%)	79 (41.2%)
合計		125 (76.3%)	38 (23.7%)	160 (100%)

表3に示されるように、関節エコーでは約半数の関節で滑膜病変が検出されたが、診察上所見（圧痛または腫脹）を認めた関節は、160関節部位中15関節（9.4%）にとどまった。また診察上関節所見を認める関節では、関節エコーにより100%滑膜病変が検出された。また表4に示されるように、関節エコーで滑膜ドプラシグナルを認める関節においても、診察では23.7%のみにしか

所見が検出されなかった。すなわちブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの滑膜病変を関節レベルで正確に評価するためには診察所見のみでは不十分である可能性が示唆された。

関節部位毎の比較を図3に示す。全体に診察による検出が困難であることが示唆されるが、特に罹患率100%の手関節および足関節では関節エコーによる重症度評価の意義が大きいと考えられた。

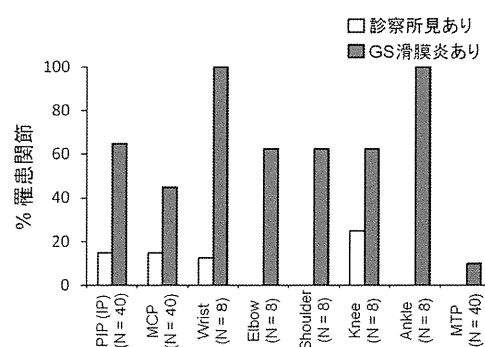


図3：関節部位毎の診察所見と関節エコー所見の比較

E. 結論

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの関節病変を、高感度画像診断を用いて網羅的に解析した報告はこれまでない。今回の検討により、本疾患の関節病変の主体が腱鞘滑膜炎であることが確認され、特に手関節および足関節では非常に高頻度に腱鞘滑膜炎を認めることが示された。一方、炎症が回避される腱鞘滑膜部位があること、また明らかな活動性を伴う関節滑膜炎も散見されることが分かった。さらに、患児全体の滑膜炎の疾患活動性はDAS28-ESRのような composite score に反映されること、その一方で個々の関節部位の病変を診察で正確に評価することは困難であることが示唆された。

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの関節病変が無痛性であることは患児の

QOL 上救いではあるが、不可逆性の関節変形を予防するための治療介入が遅れる要因ともなり得る。今回の検討により現時点では composite score による病勢評価が妥当であることが示されたが、個々の関節変形を防ぐためのより細やかな治療戦略のためには関節エコーによる病態評価が有用となり得る。より多くの症例の蓄積、また治療介入に対する反応を含めた経時的変化の解析により、適正な治療戦略の基盤が構築されることが期待される。

またブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスの炎症が、特定の腱鞘滑膜で回避され、特定の関節滑膜で惹起されること、画像上関節リウマチと同様の所見を呈しながら無痛性であることも興味深い知見である。今後他の解析手法と画像診断を組み合わせることにより、より詳細な病態が解明されることが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Oki M, Watanabe N, Owada T, Oya Y, Ikeda K, Saito T, Matsumura R, Seto Y, Iwamoto I, Nakajima H. A functional polymorphism in B and T lymphocyte attenuator is associated with susceptibility to rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol.* (in press)
2. Nakagomi D, Ikeda K, Kawashima H, Kobayashi Y, Suto A, Nakajima H. Bucillamine-induced yellow nail in Japanese patients with rheumatoid arthritis: two case reports and a review of 36 reported cases. *Rheumatol Int.* (in press)
3. Wakefield RJ, D'Agostino MA, Naredo E, Buch MH, Iagnocco A, Terslev L,

Ostergaard M, Backhaus M, Grassi W, Dougados M, Burmester GR, Saleem B, de Miguel E, Estrach C, Ikeda K, Gutierrez M, Thompson R, Balint P, Emery P. After treat-to-target: can a targeted ultrasound initiative improve RA outcomes? *Ann Rheum Dis.* 2012; 71: 799-803

4. 池田啓, 中込大樹, 中島裕史. 関節リウマチ診療における関節エコーの有用性. *治療* 2012;94: 214-20.
5. 池田啓. 関節リウマチ超音波検査の意義と問題点. *リウマチ科.* 2011;45: 182-90.
6. 池田啓, 中島裕史. 関節エコー画像の特徴. *Mebio.* 2011;28:70-9.
7. 池田啓. 関節リウマチ (RA) 診療における画像診断の進歩. *Rheumatoid Arthritis Trends.* 2011;2: 6-7.

2. 学会発表

国際学会

1. Ikeda K. New approach through a beneficial tool - The application of ultrasonographic evaluation of synovium in the management of rheumatoid arthritis. (*The 5th Asian Congress on Autoimmunity, Satellite Symposium "The next stage of RA management: evidence evolved from Asia"* November 18, 2011. Singapore)
2. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Suzuki Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. The impact of ultrasonography on the classification of rheumatoid arthritis with 2010 ACR/EULAR criteria: ultrasound-combined classification with two different definitions of gray-scale synovitis for joint involvement. (*2011 American College of Rheumatology Annual Meeting.* November 6, 2011. Chicago, USA)
3. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Suzuki Y, Takatori H, Suzuki K,

Takabayashi K, Nakajima H. The impact of ultrasonography on the classification of RA with 2010 ACR/EULAR criteria. (2011 European League Against Rheumatism Congress. May 27, 2011. London, UK)

国内学会

1. 中込大樹, 池田啓, 細川淳一, 山形美絵子, 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 川島広稔, 星野東明, 高橋健太郎, 若新英史, 高取宏昌, 鈴木浩太郎, 高林克日己, 中島裕史. 超音波滑膜評価による 2010 年 ACR/EULAR 関節リウマチ分類基準の精度の向上 (第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2012 年 4 月 27 日, 東京)
2. 池田啓. 関節エコーによる滑膜炎評価方法と関節リウマチ診療応用の国際的な流れ (第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2012 年 4 月 27 日, 東京)
3. 池田啓. 関節エコーによる関節リウマチの滑膜炎評価 -日本リウマチ学会関節エコー撮像ガイドラインの活用- (第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会, ハンズオンセミナー. 2012 年 4 月 27 日, 東京)
4. 池田啓. リウマチ性疾患における関節エコーによる滑膜評価の実践 (第 56 回日本リウマチ学会総会・学術集会, Meet the Expert, 2012 年 4 月 27 日, 東京)
5. 池田啓. 構造的寛解の達成に画像的寛解は必要か? (第 26 回臨床リウマチ学会学術集会, 2011 年 12 月 4 日, 横浜)
6. 池田啓. 外来での超音波検査の実際-リウマチ診療における超音波検査の活用 (第 26 回臨床リウマチ学会学術集会, 2011 年 12 月 3 日, 横浜)
7. 池田啓. リウマチ診療における超音波検査を用いた滑膜評価の意義 (第 21 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会, 2011 年 9 月 3 日, 大阪)
8. 池田啓. 超音波で評価するもの (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011

年 7 月 20 日, 神戸)

9. 池田啓, 川島広稔, 高橋健太郎, 平松有希子, 横田雅也, 岩田有史, 柏熊大輔, 若新英史, 高取宏昌, 須藤明, 加々美新一郎, 鈴木浩太郎, 廣瀬晃一, 渡邊紀彦, 中島裕史. 膠原病ならびにリウマチ性疾患患者の Quality of Life 調査 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011 年 7 月 19 日, 神戸)
10. 池田啓. 関節リウマチの滑膜病変評価のためのエコー撮像法 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011 年 7 月 19 日, 神戸)
11. 中込大樹, 池田啓, 大久保綾子, 岩本太郎, 鈴木快枝, 川島広稔, 高橋健太郎, 田中繁, 若新英史, 高取宏昌, 鈴木浩太郎, 高林克日己, 中島裕史. ACR/EULAR 分類基準による関節リウマチ分類における関節超音波検査併用の影響 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011 年 7 月 18 日, 神戸)
12. 池田啓, 瀬戸洋平, 大野滋, 坂本文彦, 邊見美穂子, 深江淳, 成田明宏, 中込大樹, 谷村一秀, 小池隆夫. 滑膜ドプラ血流測定に対する検者, 機器, ならびにプローブの劣化の与える影響の検討 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会. 2011 年 7 月 18 日, 神戸)
13. 池田啓. 関節エコーによる滑膜病変の描出 (第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011 年 7 月 18 日, 神戸)

H. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

NOD2 変異に関連した全身性炎症性肉芽腫性疾患（ブラウ症候群/
若年発症サルコイドーシス）の診療基盤推進に関する研究

分担研究報告書 5

日本人ハンセン病患者における NOD2 変異の関与の検討

研究分担者 金澤伸雄 和歌山県立医科大学医学部皮膚科 講師

研究要旨

本分担研究においては、ブラウ症候群・若年発症サルコイドーシスと同様に NOD2 との相関が想定されている肉芽腫形成性疾患であるハンセン病をターゲットに、国立療養所に入所中の日本人患者から収集したゲノムを用いて NOD2 多型の相関の有無を検討した。検討した多型のうち、アミノ酸置換を伴うものはいずれも患者・健常コントロールともに多型を認めず、また多型を認めた intron 3 の一塩基多型についても、患者と健常コントロール間、病型間で出現頻度に有意差を認めなかった。本研究においては、本邦におけるハンセン病の発症・病型の違いに NOD2 が関連するというエビデンスを得ることはできなかったが、複数の多型について検討の余地があることから、今後疾患と関連する NOD2 変異・多型が見出されれば、これによるシグナル異常が肉芽腫形成に果たす役割について更なる検討を加える必要がある。

研究協力者

李 洪錦・和歌山県立医科大学医学部皮膚科 大学院生

三木田直哉・和歌山県立医科大学医学部皮膚科 助教

小坂眞紀・国立療養所多摩全生園皮膚科医師

尾崎元昭・国立療養所長島愛生園皮膚科医師

石井則久・国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部 部長

古川福実・和歌山県立医科大学医学部皮膚科 教授

機能獲得型 NOD2 変異を基盤として発症する、肉芽腫形成を特徴とする遺伝性自己炎症疾患であるが、NOD2 変異を背景として発症する肉芽腫性疾患はこれにとどまらない。NOD2 変異との相関が最初に報告されたクローン病では、欧米でのゲノムワイド関連分析にて多型との関連が認められ、機能喪失型変異によって発症する家系の存在も報告された。また通常のサルコイドーシスについても、相関がないという報告が続いていたが、重篤な肺病変を伴う症例に絞って検討したところ、クローン型多型の一つと関連することが見出されている。さらに、弱毒性抗酸菌であるらい菌による感染症であるハンセン病においても、中国でのゲノムワイド関連分析にて NOD2 とこれに結合しシグナル伝達に必須なキナーゼである RICK の遺伝子多型との関連が見出された。クローン型多型は病原体認識とそれに伴う細胞活性化を低下させる機能消失型変異と考えられており、実際こ

A. 研究目的

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスは、

これらの疾患においては肉芽腫から抗酸菌やアクネ菌などの弱毒菌・常在菌が検出されている。ではなぜ機能獲得型自己炎症疾患であるブラウ症候群と機能消失型の感染・免疫不全症であるクローン病・サルコイドーシス・ハンセン病に同じように肉芽腫が形成されるのか？その理由はいまだ明らかではない。

ハンセン病は感染症でありながら、菌に対する生体の反応性によって大きく異なる病型を示し、免疫疾患としての側面を併せ持つ。そもそも弱毒菌であることから、栄養不良などの免疫低下状態を背景に発症するが、細胞性免疫が残存し結核様の類上皮細胞肉芽腫を形成する少菌型（類結核型）と細胞性免疫不全のために菌に対する抗体を認めるが組織的には脂肪肉芽腫となる多菌型（らい腫型）に大きく分かれ、さらに細胞性免疫の獲得により多菌型から少菌型にスイッチする際にらい反応と呼ばれるアレルギー様症状を呈する。本邦においては第二次大戦後の栄養・衛生状態の改善に伴って激減し現在では新規発生をほぼ制圧できているが、途上国ではまだ多数の患者が発生している。本邦の患者は旧らい予防法により療養所に強制的に隔離され、特効薬である DDS の登場により治癒する疾患になった後も長くそこから出ることを許されなかった。患者の多くはすでに高齢となり、また眼や末梢神経の後遺障害のため、旧らい予防法が廃止になってからも療養所にとどまり余生を送っている。このような状況を受け、分担研究者らは国立感染症研究所ハンセン病研究センター、国立療養所長島愛生園、多摩全生園の協力を得て、平成 18 年から本邦ハンセン病患者における細菌センサー分子、特に TLR2, NOD1, DC-SIGN の関与について解析を行い、報告してきた (Mikita N et al, *J Dermatol Sci.* 2009; Li H, et al. *J Dermatol Sci.* 2009) が、NOD2 については十分な解析ができていなかった。

そこで本分担研究においては、これまでに収集した遺伝子サンプルを用い、NOD2 の多型について、特にクローン型の 3 つとデータベース上本邦に存在すると考えられるもの 2 つについて、少菌型、多菌型の症例と健常

コントロールの間で出現頻度に差がないか検討を行った。

B. 研究方法

和歌山県立医科大学と国立療養所多摩全生園の倫理委員会にて承認を得た計画内容に基づき、長島愛生園と多摩全生園に入所中の 99 名のハンセン病患者から文書で同意を得て静脈血を採取し、さらにゲノム DNA を抽出した。この DNA を鋳型に、NOD2 遺伝子の 2104C>T (R702W), 2722G>C (G908R), 3020insC (1007fs), 2278C>T (R760C), intron 3 50733969 (rs2111235) を含む領域を PCR にて増幅し、得られた DNA フラグメントを直接シーケンスすることにより多型の内容を決定した。一方、多摩全生園に 10 年以上勤続し、らい菌への暴露の可能性がありながらハンセン病を発症しなかった医療スタッフ 16 名と健常ボランティア 34 名、合わせて 50 名を健常コントロールとし、患者と同様に文書で同意を得て静脈血を採取し、さらにゲノム DNA を抽出し、多型の配列を決定した。明らかな韓国籍の患者、境界型、病型分類不能の患者を除き、病型のはっきりした 93 名について、各多型の出現頻度を患者 vs 健常コントロール、多菌型 vs 少菌型で比較し、 χ^2 乗検定による統計的処理を行った。

表 1. 遺伝子解析対象者の詳細

病型	人数	年齢 (歳)
少菌型	33 (男 22・女 11)	62-93 (平均 78)
多菌型	60 (男 46・女 14)	62-90 (平均 76)
健常コントロール	50 (男 27・女 23)	22-71 (平均 42)

(倫理面への配慮)

全ての試料は書面にてインフォームドコンセントを得て収集されたものである。本研究は和歌山県立医科大学と国立療養所多摩全生園の遺伝子解析研究に関する倫理委員会の承認を得て開始された。

C. 研究結果

解析対象としたハンセン病患者 93 名と健常コントロール 50 名の詳細を表 1 に示す。

クローン型の 2104C>T (R702W), 2722G>C (G908R), 3020insC (1007fs)については, 白人において相関が報告されたものの, これまでに東アジア人では認められていなかったが, やはり本邦のハンセン病患者においても見出されなかった。

表 2. Intron 3 50733969 の解析結果

病型	遺伝子型	人数	χ 二乗
少菌型	AA	21	p=0.457
	AG	11	
	GG	1	
多菌型	AA	37	p=0.226
	AG	17	
	GG	6	
全患者	AA	58	p=0.226
	AG	28	
	GG	7	
健常コントロール	AA	24	p=0.226
	AG	22	
	GG	4	

病型	遺伝子型	人数	χ 二乗
少菌型	A	53	p=0.485
	G	13	
多菌型	A	91	p=0.168
	G	29	
全患者	A	144	p=0.168
	G	42	
健常コントロール	A	70	p=0.168
	G	30	

日本人で認められる一塩基多型を集積したデータベースである JSNP に登録のあった 2278C>T (R760C)についても, 患者・コントロールとも多型は見出されなかった。多型を

認めた intron 3 50733969 の解析結果を表 2 に示した。各遺伝子対, アリル, 劣性モデル, 優性モデルそれぞれにおける少菌型 vs 多菌型, 患者 vs 健常コントロールの出現頻度の違いを, またそれぞれ男女のみで比較したが, いずれも有意差を認めなかった。

病型	遺伝子型	人数	χ 二乗
少菌型	AA	21	p=0.851
	AG/GG	12	
多菌型	AA	37	p=0.851
	AG/GG	23	
全患者	AA	58	p=0.098
	AG/GG	35	
健常コントロール	AA	24	p=0.098
	AG/GG	26	

病型	遺伝子型	人数	χ 二乗
少菌型	AA/AG	32	p=0.223
	GG	1	
多菌型	AA/AG	54	p=0.223
	GG	6	
全患者	AA/AG	86	p=0.919
	GG	7	
健常コントロール	AA/AG	46	p=0.919
	GG	4	

D. 考察

白人において最初にクローン病との相関が報告された 2104C>T (R702W), 2722G>C (G908R), 3020insC (1007fs) は, これまでに東アジア人では認められていなかったが, 多くの民族においてアトピー性皮膚炎や移植片対宿主反応など様々な疾患との相関が報告されており, 本研究でも改めて検討を行ったが, やはり本邦のハンセン病患者においても変異は見出されなかった。

2278C>T (R760C) については JSNP に登録があり多型の存在が期待されたが、これも患者・コントロールとも見出されなかった。Intron 3 50733969 は比較的きれいに多型が分かれたが、表 2 に示すように、各遺伝子対、アレル、劣性モデル、優性モデルのいずれにおいても、少菌型 vs 多菌型、患者 vs 健常コントロールとも出現頻度に有意差を認めなかった。表には示さないが、それぞれ男女のみで比較しても同様の結果であり、この多型は日本人におけるハンセン病の発症・病型の違いには関連がないと結論づけられた。

一方、近年、日本人においても、弱いながら R471C 多型が骨髄移植後の急性骨髄性白血病の発症と、また rs1077861 多型が慢性閉塞性肺疾患 (COPD) と関連することが報告されており、中国からハンセン病と関連すると報告された rs9302752 とともに、検討の余地がある。

E. 結論

本分担研究においては、本邦におけるハンセン病の発症・病型の違いに NOD2 が関連するというエビデンスを得ることはできなかったが、複数の多型について検討の余地がある。今後疾患と関連する NOD2 変異・多型が見出されれば、これによるシグナル異常が肉芽腫形成に果たす役割について更なる検討を加えて行く必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanazawa N. Rare hereditary autoinflammatory disorders: Towards an understanding of critical in vivo inflammatory pathways. *J Dermatol Sci.* (in press)

2. Kanazawa N. Nakajo-Nishimura syndrome: an autoinflammatory disorder showing pernio-like rashes and progressive partial lipodystrophy. *Allergol Int.* (in press)

3. Tchernev G, Ananiev J, Cardoso JC, Wollina U, Verma SB, Patterson JW, Dourmishev LA, Tronnier M, Okamoto H, Mizuno K, Kanazawa N, Gulubova M, Manolova I, Salaro C. Sarcoidosis and molecular mimicry-important etiopathogenetic aspects: current state and future directions. *Wien Klin Wochenschr* (in press)

4. 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 USA* 2011;108:14914-9.

5. Kanazawa N. Sarcoidosis and autoinflammation. *Inflamm Regen* 2011;31: 66-71.

6. Furukawa F, Kanazawa N. Autoimmunity versus Autoinflammation. From the 2nd JSID-Asia-Oceania- Forum, Wakayama, Japan, 5th December, 2010. *J Dermatol Sci.* 2011;63:132-7.

7. Yoshimasu T, Kanazawa N, Kambe N, Nakamura M, Furukawa F. Identification of 736T>A mutation of lipase H in Japanese siblings with autosomal recessive woolly hair. *J Dermatol.* 2011;38:900-4.

8. Azukizawa H, Döhler A, Kanazawa N, Nayak A, Lipp M, Malissen B, Autenrieth I, Reizis B, Riemann M, Weih F, Berberich-Siebelt F, Lutz MB. Steady state migratory RelB+ Langerin+ dermal dendritic cells mediate

peripheral induction of epidermal antigen-specific CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells. *Eur J Immunol.* 2011; 41:1420-34.

9. Kanazawa N. Hereditary auto-inflammatory diseases with skin manifestations, *The 22nd World Congress of Dermatology Special Book Asian Skin and Skin Diseases*, pp.293-297, 2011

10. 有馬和彦, 井田弘明, 金澤伸雄, 吉浦孝一郎: プロテアソームの機能阻害型遺伝子変異が新規自己炎症疾患である中條—西村症候群を引き起こす. *細胞工学.* 2012;31: 68-69.

11. 金澤伸雄. 壊疽性膿皮症は自己炎症疾患か? 宮地良樹編 WHAT'S NEW in 皮膚科学 2012-2013 メディカルレビュー社, p.34-35, 2012

12. 金澤伸雄. 中條—西村症候群. 原寿郎編 小児の発熱 A to Z 診断と治療社, p.226-228, 2012

13. 金澤伸雄. ピアス皮膚炎・肉芽腫とは? 宮地良樹編 女性の皮膚トラブル FAQ 診断と治療社, p.218-223, 2012

14. 金澤伸雄. 自己炎症疾患とは. 皮膚病診療 2011;33: 8-14.

15. 金澤伸雄. 名前をつけよう. 臨床皮膚科. 2011;65: 85.

16. 金澤伸雄. IL-1 受容体アンタゴニスト欠損症. 炎症と免疫. 2011;19: 147-52.

17. 井田弘明, 吉浦孝一郎, 金澤伸雄. 中條-西村症候群の臨床と病態. 炎症と免疫. 2011;19: 153-7.

18. 金澤伸雄, 有馬和彦, 井田弘明, 吉浦孝一郎, 古川福実. 中條-西村症候群. 日本臨床免疫学会雑誌 2011;34: 388-400.

19. 金澤伸雄. 高 IgD 症候群. 井村裕夫 総編集 症候群ハンドブック 中山書店, 東京, p.499, 2011

20. 木村文子, 国本佳代, 上出康二, 青

柳憲幸, 古川福実, 金澤伸雄. 凍瘡様紅斑を繰り返す幼児の 1 例. 第 11 回浜名湖皮膚病理研究会記録集 pp5-6, pp14-5, 2011

2. 学会発表

国際学会

1. Kanazawa N, Arima K, Mishima H, Furukawa F, Ida H, Yoshiura K. A mutation of the immunoproteasome subunit gene causes a novel autoinflammatory disorder Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever). (*2011 Symposium of the Asia Pacific League of Associations for Rheumatology*, April 15-17, 2011. Taipei, Taiwan)

2. Kanazawa N. Childhood sarcoidosis and Blau syndrome. Symposium Noninfectious Granulomatous Disorders: From Sarcoid to Foreign Body Granuloma. (*The 22nd World Congress of Dermatology*, May 24-29, 2011. Seoul, South Korea)

3. Kanazawa N, Arima K, Mishima H, Furukawa F, Ida H, Yoshiura K. A mutation of the immunoproteasome subunit gene causes a novel autoinflammatory disorder Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever). (*The 22nd World Congress of Dermatology*, May 24-29, 2011. Seoul, South Korea)

4. Kanazawa N, Kunimoto K, Mikita N, Furukawa F, Yoshiura KI, Ida H. Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever) and related autoinflammatory disorders accompanied with lipodystrophy. (*10th World Congress on Inflammation*, June 25-29, 2011. Paris, France)

5. Ida H, Arima K, Kinoshita A, Mishima H, Kanazawa N, Furukawa F, Murata S, Yoshiura KI, Eguchi K. A novel mutation of proteasome subunit causes decrease of proteasome activity in Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever). (*10th World Congress on Inflammation*, June 25-29, 2011.