

ド・コンセントを文書で受ける。全ての検体は採取後、速やかに患者個人識別情報を検体から取り除き、符号化・番号化による連結可能匿名化した上で、解析を行い、患者個人識別情報は、厳重に保管した。

C. 研究結果

1. 臨床像の特徴

当研究班の診断基準を満たす330名のFMF症例の集計された分類基準に準じて、Typical 180名、Incomplete 150名の2群に分類した。全症例の発熱期間の分布では、FMFは発熱のパターンにより2群に分類され、典型型は発熱期間が4日以内に集積しているのに対し、不完全型は発熱期間が、一定せず、広く分布していることが判る。次に典型型、不完全型の2群に臨床像の比較を行った。発症年齢、発熱発作の頻度、発熱期間、家族歴の有無、胸痛、腹痛の頻度、*exon10*変異の有無、*exon3*変異の有無に有意差を認めた。次に単変量解析で $p<0.05$ 以下の項目を用い多変量解析を行った。その結果、発熱期間、*exon10*変異の有無、*exon3*変異の有無、両群間で有意に異なることが判る。

2. *MEFV*遺伝子について

次に*MEFV*遺伝子変異型と、FMFの病型との関連を調べてみた。FMF症例を*exon10*変異の有無で2群に分け、さらに*exon1*, 2, 3変異の有無で4グループに分け、各群での典型型、不完全型の比率を調べてみた。*exon10*変異例は典型例が多く、*exon10*以外の変異は、不完全型の症例が多いことが判った。さらに*exon10*変異例で、*exon1*, 2, 3の変異を有している場合（複合ヘテロ変異）、不完全型の比率が高くなることが判った。

D. 考察

今回の検討結果より、典型例、不完全型の

臨床像、遺伝子的特徴が明らかになった。つまり典型型では発熱期間が4日以内で漿膜炎の頻度が高く、家族歴の比較が高く、*exon10*変異が多いことが判った。

それに対し不完全型は、発熱期間が一定せず、漿膜炎の頻度が低く、*exon3*変異を有する比率が有意に高いことが判った。しかし多変量解析で2群を比較して有意差がみられたのは、発熱期間と*exon10*, *exon3*変異の有無であった。発熱期間は、典型型と不完全型を分類する基準に該当しており、有意差がみられるのは、当然の結果であることより、この2群を分類するのに有用な補助項目として*MEFV* *exon3*, *exon10*の変異の有無が抽出された。

ロジスティック解析で有意差を認めたこれら3項目に加え、単変量解析で有意差を認め、臨床的にも重要と考えられる2項目（家族内発症の有無、発熱発作の頻度が、1ヶ月1回以上）を加え、5項目からなる分類基準を作成した。この5項目中2項目以下の該当項目を有する場合、不完全型と定義した場合の感度は83.0%であった。

E. 結論

本邦のFMF症例の臨床所見を集計し、典型例と不完全型の臨床所見を比較し、2群の識別に重要な臨床所見、分類基準を作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Migita K, Agematsu K, Masumoto J, Ida H, Honda S, Jiuchi Y, Izumi Y, Maeda Y, Uehara R, Nakamura Y, Koga T, Kawakami A, Nakashima M, Fujieda Y, Nonaka F, Eguchi K, Furukawa H, Nakamura T, Nakamura M, Yasunami M. The Contribution of SAA1 Polymorphisms to Familial Mediterranean Fever

Susceptibility in the Japanese
Population. PLoS One.
2013;8(2):e55227.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

分担研究報告書

家族性地中海熱に関する症例対照研究の解析の方向性について

研究分担者 上原里程（自治医科大学地域医療学センター・公衆衛生学部門）

研究分担者 中村好一（自治医科大学地域医療学センター・公衆衛生学部門）

研究要旨 家族性地中海熱は稀な疾患であることを考慮して、仮説検証を目的として症例対照研究を実施することになった。家族性地中海熱の典型例と非典型例を比較することにより、どのような曝露要因が関連するのか、あるいはどのように典型例と非典型例を判別すればよいかについて検討した。臨床所見や遺伝子変異といった患者情報を用いて典型例と非典型例を判別するスコアを作成する場合には临床上重要と考えられる因子を含めて検討することも重要と思われる。スコアの活用のためには、複数の患者集団で適用し判別の程度を検討すべきである。

A. 研究目的

特定疾患は患者数が少ないことが特徴であり、疫学研究を実施する際にはこの特徴を踏まえて研究デザインを組む必要がある。昨年度の研究では、家族性地中海熱（FMF）に関する仮説検証には症例対照研究が妥当なデザインであることを提言したが、今年度はこの提言に基づきFMF典型例と非典型例を比較する症例対照研究が実施されている。本研究では実施中の症例対照研究の解析の方向性を検討した。

B. 研究方法

全国疫学調査の二次調査あるいは継続して実施された詳細調査によりFMFの典型例および非典型例が合計約300例収集されている。これらの患者データを基に、FMF典型例と非典型例の2群について症例対照研究を実施する場合に、どのような曝露要因が関連するのか、あるいはどのように典型例と非典型例を判別すればよいかについて検討した。

C. 研究結果

今回の症例対照研究では、想定される曝露要因として基本属性、臨床所見や遺伝子変異の有無といった臨床的に得られる変数をFMFの典型例と非典型例との2群で比較した。交絡因子の調整のために、単変量解析に加えてロジスティック回帰分析などの多変量解析が用いられるが、FMF典型例と非典型例との差異に独立して関連する因子が抽出された場合は、これらの因子を用いてどのように典型例と非典型例を判別すべきかを検討することになる。当初の検討では、遺伝子変異（exon10およびexon3）のみが独立して関連する因子として抽出されたので、これらの遺伝子変異の組み合わせによる頻度の違いから典型例と非典型例との判別が試みられた。しかしながら、独立して関連する因子が遺伝子変異の2つである場合、感度と特異度が十分ではなかったため、遺伝子変異に加えて临床上重要と考えられる因子を加えて、判別できるよう

なスコアの作成を試みることも検討している。

D. 考察

全国疫学調査によりFMFの患者数は292人と推計され、非常に稀な疾患であることが認識されている。稀な疾患に適用できる症例対照研究はFMFの仮説検証のためにまず検討すべき研究デザインといえ、今年度はFMFの典型例と非典型例との判別を目的に約300例を対象に症例対照研究が実施されている。

症例対照研究によりFMF典型例と非典型例の差異に関連する因子が抽出されるが、研究班で実施している症例対照研究ではその因子として遺伝子変異の有無が抽出された。しかしながら、2つの遺伝子変異の組み合わせだけでは十分な判別ができないことが予想されたので、臨床上重要な因子を加えてスコア化を試み、感度と特異度を満足させることも重要ではないかと考えられる。その場合には、臨床上重要な因子をどのような基準でスコア化のモデルに組み入れたのかを論ずる必要がある。

今後、臨床現場でFMFの典型例と非典型例を判別することにより早期の診断と治療につなげることが可能となると考えられるため、判別のスコアを作成し活用する場合にはいくつかの患者集団で適用し、検討を深めることが重要と考えられる。

E. 結論

FMFの典型例と非典型例とを比較する症例対照研究では、典型例と非典型例を判別するスコアを作成する場合には臨床上重要と考えられる因子を含めて検討することも重要と思われる。スコアの活用のためには、複数の患者集団で適用し判別の程度を検討すべきである。

F. 研究発表

1. 論文発表

Sakushima K, Tsuboi S, Yabe I, Hida K, Terae S, Uehara R, Nakano I, Sasaki H. Nationwide survey on the epidemiology of syringomyelia in Japan. J Neurol Sci. 2012;313:147-152.

Koga M, Kusunoki S, Kaida K, Uehara R, Nakamura Y, Kohriyama T, Kanda T: Nationwide survey of patients in Japan with Bickerstaff brainstem encephalitis: epidemiological and clinical characteristics. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83:1210-1215.

Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Nakamura A, Masumoto J, Yachie A, Furukawa H, Ishibashi H, Ida H, Yamazaki K, Kawakami A, Agematsu K: Familial Mediterranean fever in Japan. Medicine. 2012;91:337-343.

2. 学会発表

なし

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（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

MEFV 遺伝子変異と炎症病態； exon 3 variants と exon 10変異の比較

研究分担者 谷内江昭宏 金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授

研究要旨 典型的なFMFの臨床像を示しながら原因遺伝子とされるMEFV 遺伝子変異を認めない症例が存在する。またexon10 以外の変異を認めるが非典型的な臨床像を示す症例もあり、genotype-phenotypeの関連が明確でない。今回の研究では、MEFV 遺伝子変異の内、臨床的には不全型を示すことが多い exon 3 variants 症例と、典型例となる exon 10 の変異を有する発熱疾患患者について、血清中の種々の炎症性サイトカインを定量、そのプロファイルの臨床的意義について検討した。その結果、Exon10に変異をもつ FMF 典型例において持続的なIL-18上昇を認めた。この結果は、FMFの病態を考え、コルヒチンによる治療介入の意義を判断するうえで重要な知見と考えられた。

A. 研究目的

周期性発熱症候群の中でも家族性地中海熱（FMF）は最も頻度が高い。また、コルヒチンによる治療介入が有効であることから、早期診断は重要である。

一方、典型的なFMFの臨床像を示しながら原因遺伝子とされるMEFV 遺伝子変異を認めない症例が存在する。またexon10 以外の変異を認めるが非典型的な臨床像を示す症例もあり、genotype-phenotypeの関連が明確でない。

我々は、MEFV 遺伝子変異を有する発熱疾患患者について、血清中の種々の炎症性サイトカインを定量、そのプロファイルの臨床的意義について検討した。

B. 研究方法

対象：繰り返す発熱、あるいは遷延する発熱を主訴に当科受診、あるいは入院した小児、あるいは同様の理由で紹介医を受診した小児を対象とした。成人例については、

発熱、漿膜炎、アミロイドーシスなどのため紹介医を受診している患者を対象とした。対象となった症例は124例である（図1）。

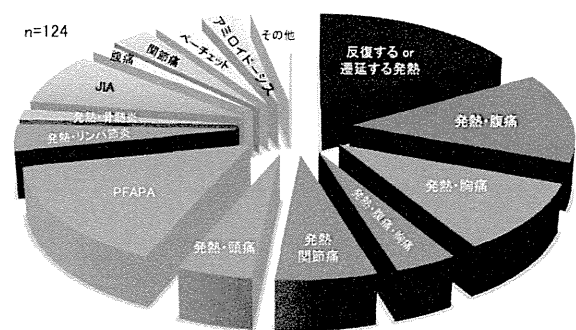


図1；発熱・炎症症例の内訳

方法：末梢静脈血より白血球を分離、DNAを抽出した。これらの症例全てについて、

MEFV 遺伝子の全 exon の配列を解析した。その結果、exon 3 variants に分類される変異 (P369Sを含む) を認めた症例は17名であった。exon 10に変異 (M694I、あるいはM694V) を認めた症例は16名であり、その多くは対側 allele にE148Qを伴う複合ヘテロ接合体と考えられた。これらの症例について、血清サイトカイン値をELISA法により定量した。サイトカインの定量は、多くの症例においては、診断時あるいは治療開始前、発作間歇期・非発熱時に検査を施行した。

倫理面への配慮：全ての遺伝子解析事例について、患者本人あるいは保護者にその内容を説明、納得して頂いた上で同意を得た。*MEFV* 遺伝子変異解析については、金沢大学医薬保健学域倫理委員会 (IRB) 規定に則って施行した。

C. 研究結果

1 ; 非発作時における血清サイトカイン

Exon 3 variant症例においては、炎症性

サイトカインが高値を示した例はほとんどなかった。発熱発作時に検査を施行した一例でのみ、neopterinとIL-18の軽度上昇を認めた。ほとんどの症例ではIL-18は正常範囲以内に留まった。一方、exon 10に変異を示す典型例では多くの例でIL18が高値を示した。特に、発作間歇期がほとんどなくアミロイドーシスを合併していた2例では、neopterin の高値とIL-18の著しい高値が確認された。これらの症例では可溶性TNF受容体も高値を示した (図2)。典型例の内、発作時の検討が可能であった2例では、IL-6も高値を示した。

2 ; サイトカイン・プロファイリング

2群間で、炎症性サイトカインのプロファイルをレーダーチャートして示し比較した。図3に示すように、exon 10に変異を有する典型例では sJIAあるいは成人 Still病に類似する、IL-18優位のパターンを示した。一方、exon 3 variant症例はほぼ正常のプロフィールが得られた。

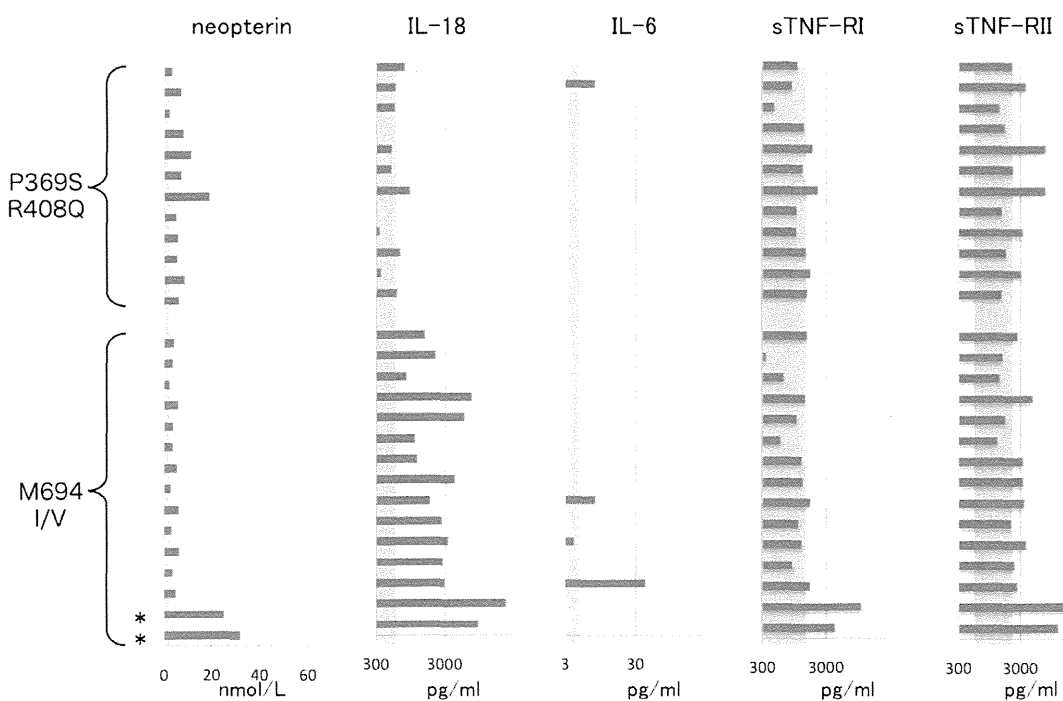


図2：血清サイトカイン値の分布

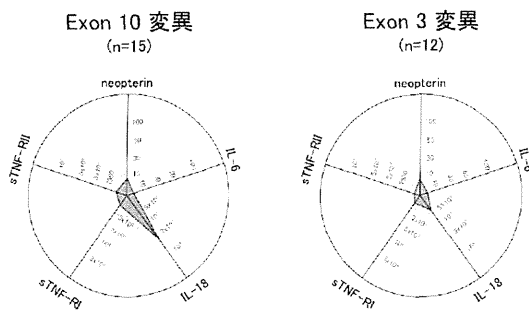


図3：サイトカイン・プロファイリング

D. 考察

典型的なFMF症例の診断は比較的容易で、多くの症例ではMEFV遺伝子解析が診断の助けとなる。一方で、exon 10以外の変異、特に exon 3 variant と呼ばれるMEFV遺伝子変異により非典型的な臨床像を示すFMF症例が見られる。

今回の研究では exon 10に変異をもつFMF典型例において持続的なIL-18上昇が確認された。この事実は、本疾患が非発作時においても継続的なinflammasomeの活性化状態が持続していることを示唆している。この結果は、FMFの病態を考え、コルヒチンによる治療介入の意義を判断するうえで重要な知見と考えられた。

E. 結論

FMF典型例においては、IL-18高値に反映されるinflammasomeの持続的な活性化が起こっていることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Nakamura A, Masumoto J, Yachie A, Furukawa H, Ishibashi H, Ida H, Yamazaki K, Kawakami A, Agematsu K. Familial Mediterranean Fever in Japan. *Medicine*. 2012;91:337-343.

2. Shimizu M, Yachie A. Compensated inflammation in systemic juvenile idiopathic arthritis: role of alternatively activated macrophages. *Cytokine*. 2012;60:226-32.
3. Iwata K, Toma T, Yachie A. 38-year-old woman with recurrent abdominal pain, but no fever. *Int J Gen Med*. 2012;5: 265-8.

2. 学会発表

1. 東馬智子、和田泰三、清水正樹、上野和之、谷内江昭宏。MEFV変異を有する周期性発熱症候群におけるサイトカイン・プロファイリングの特徴。第22回日本小児リウマチ学会総会・学術集会。2012年10月5日～7日（名古屋）

G. 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

特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

家族性地中海熱における典型例非典型例の鑑別に関する研究

研究分担者 上松 一永 信州大学医学部准教授

研究要旨

家族性地中海熱は典型例と非典型例に分かれるが、臨床症状や MEFV 遺伝子変異部位が異なる。血清サイトカインプロファイルに関しては、従来の炎症性サイトカインは、発作間歇期では両者で上昇はなく、発作時は IL-6 の上昇などが認められるものの特異的サイトカインの上昇は見出されていなかった。今回の血清サイトカインプロファイルの解析で、驚いたことに、IL-1beta と共にその分泌型産生にインフラマソームがかかわる IL-18 が、典型例において発作間歇期に高値であり、発作時にさらに上昇していた。対照的に、非典型例においては、発作時と非発作時共に IL-18 は正常値であった。血清 IL-18 が典型例と非典型例の識別に有用であることが判明した。

A. 研究目的

家族性地中海熱 (familial Mediterranean fever; FMF) は、地中海に多くみられる常染色体劣性遺伝疾患で、周期性発熱、随伴する漿膜炎や関節炎が特徴的である。家族性地中海熱の Tel-Hashomer 基準には、2 つのタイプが含まれている。1 つは 38° 以上の熱が 12 時間から 3 日間持続、随伴症状として腹膜炎、片側の胸膜炎、心膜炎、下肢の単関節炎を伴う典型例である。対照的に、不完全型/非典型例は、38° C 以下の発熱、6 時間～1 週間発熱が持続、腹膜炎のない腹痛、限局した腹部症状、関節炎が典型例にみられる以外の部位に認める、などの症状を呈する。典型例と不完全型/非典型例は MEFV 遺伝子部位も異なる。最近、不完全型の中に PFAPA 症状を呈する患者がいることが明らかになってきた。

インターロイキン-18 (IL-18) は、IL-1 ファミリーに属し、不活性 23-kDa のタンパク質が細胞内プロテアーゼであるカスパーゼ-1 によって切られると、18-kDa の活性型として産生され、ATP 依存性に分泌される。IL-18 には多様な機能があり、T 細胞においては、他のサイトカインの存在下で Th1 や Th2 細胞に分化を促すだけでなく、T 細胞接着と遊走能を高めている。また、NK 細胞障害活性を促進し、IFN-gamma 産生を高めている。単球においては、単球遊走能と活性化の作用を有する。また、好中球遊走能も高めている。IL-18 は標的細胞の表面でヘテロ二量体レセプターと結合し作用する。この受容体は、IL-18 結合性 alpha 鎖と IL-18 非結合性 beta 鎖とから成る。

家族性地中海熱患者において、血清 IL-18 値が典型例と非典型例の識別に有用で

あることを見出したので報告する。

B. 研究方法

臨床像と遺伝子解析から、家族性地中海熱典型例ならびに非典型例と診断した症例を対象とした。発作時ならびに発作間歇期の血清サイトカインを IL-18 は ELISA によって、他のサイトカインは CBA flex beads 法で測定した。

C. 研究結果

典型例と非典型例の相違点 (表 1)

臨床症状の差異は、発熱の持続期間と間隔が異なっている。随伴症状として、典型例では腹痛/胸背部痛が高頻度であるのに対して、非典型例では、これらの症状は少なく、上肢の関節炎などを伴っていた。発作時の炎症検査所見には違いはなかった。コルヒチン反応性は典型例できわめて良好なのに対し、非典型例では良好なものの反応性が低下している症例がみられた。MEFV exon10 の変異を持つ患者は典型例の症状を呈し、MEFV exon3 の変異を持つ患者は非典型例の症状を呈した。

表1. 典型例と非典型例の相違点

| | 典型例 Typical | 非典型例 Atypical incomplete |
|-------------|-----------------|--------------------------------|
| 臨床症状 | | |
| 熱 | 発熱の持続期間と間隔が異なる | |
| 随伴症状 | 腹痛/胸背部痛 | 関節炎 |
| コルヒチン反応性 | きわめて良好 | 良好 |
| 血液検査所見 | 炎症検査所見など差異はない | |
| MEFV遺伝子変異部位 | Exon 10 | Exon 3 |
| 血清サイトカイン値 | 炎症性サイトカイン値に差はない | |

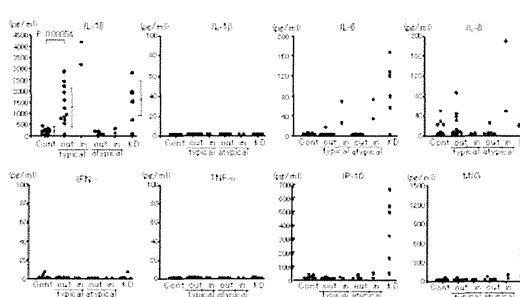
血清サイトカイン値 (図 1)

血清 IL-1beta, IL-6, TNF-alpha, IFN-gamma, IP-10, MIG 値は、発作間歇期

において、典型例、非典型例ともに上昇はみられなかった。IL-8 は発作間欠時と発作時に経度上昇がみられたが、優位な上昇かどうかは判別できなかった。

発作時は、両タイプで共に IL-6 の上昇は認められたが、IL-1beta, TNF-alpha, IFN-gamm, IP-10, MIG の上昇はなかった。興味深いことに、IL-18 は典型例において発作間歇期に高値であり、発熱発作時にその上昇が認められた。反対に、非典型例においては、発作時と非発作時共に IL-18 は正常値であった。

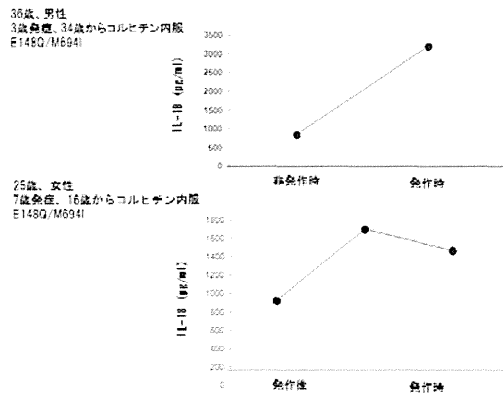
図1. MEFV exon10変異と exon3 variants の血清サイトカインプロファイル



IL-18 値の推移 (図 2)

E148Q/M694I 変異を有する典型例の 2 例において、血清 IL-18 の推移を検討したところ、発作時には、非発作時の約 3 倍に上昇することが判明した。

図2 IL-18の推移

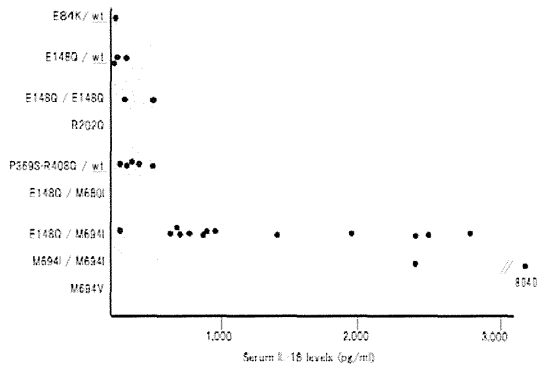


MEFV 変異と血清 IL-18 値 (図 3)

発作間欠期における血清 IL-18 値は、E84K, E148Q/wt, E148Q/E148Q, R369S-R408Q を有する患者では、正常コントロールと同様に、400pg/ml 以下で上昇はみられなかった。E148Q/M694I 変異は、IL-18 値は高く、M694I ホモ接合体変異でも高値であった。

Exon10 の変異を含む症例では、IL-18 値が上昇し、Exon1, Exon2, Exon3 のみの変異では、IL-18 値は正常人血清と差異はないものと考えられた。

図3 血清IL-18値（非発作時、コルヒチン内服中）



D. 考察

家族性地中海熱において、IL-1beta 産生が亢進しているという報告と亢進はみられないという報告があるが、私たちの

検討でも血清 IL-1beta 値は、発作時においても血清中で上昇していなかった。また、単球刺激における IL-1beta 産生は、正常コントロールと比較して差異はなかった（未発表）。パイリンはインフラマソームを抑制し、IL-1beta/IL-18 の産生を制御していることから、この2つのサイトカインは共に同じ動きをしている可能性が示唆される。この不一致の理由として、① RT-PCR による発現の検討では、IL-1beta は検出されないが、IL-18 は検出されるという報告があり、IL-18 が微量ながら産生されやすい可能性がある。② インフラマソームを構成する重要な因子である ASC が、FMF では常に発現が亢進しているという報告があり、FMF 患者では IL-18 を中心に産生が高まっている可能性がある。③ 今後の検討課題だが、インフラマソームは単球/マクロファージや内皮細胞以外に上皮細胞でも働いており、上皮細胞から FMF 患者では IL-18 産生が亢進している可能性がある。

E. 結論

家族性地中海熱患者において、Exon10 に変異を有する典型例においては、発作時のみならず非発作時においても血清IL-18の上昇を認めた。対照的に、非典型例を多く含むExon10以外の変異では、IL-18は正常値であった。家族性地中海熱の典型例と非典型例の鑑別として、IL-18測定することが有用であり参考になると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Migita K, Ida H, Moriuchi H, Agematsu K. Clinical relevance of MEFV gene mutations in Japanese patients with unexplained fever. J Rheumatol. 2012 Apr;39(4):875-7.

Wada T, Toga A, Sakakibara Y, Toma T, Shigemura T, Agematsu K, Yachie A. Clonal expansion of Epstein-Barr virus (EBV)-infected $\gamma \delta$ T cells in patients with chronic active EBV disease and hydroa vacciniforme-like eruptions. Int J Hematol. 2012 Oct;96(4):443-9.

Wada T, Muraoka M, Toma T, Imai T, Shigemura T, Agematsu K, Haraguchi K, Moriuchi H, Oh-Ishi T, Kitoh T, Ohara O, Morio T, Yachie A. Rapid Detection of Intracellular p47phox and p67phox by Flow Cytometry; Useful Screening Tests for Chronic Granulomatous Disease. J Clin Immunol. 2013 Jan 10

Kiyoshi Migita, MD, Ritei Uehara, MD, Yoshikazu Nakamura, MD, Michio Yasunami, MD, Ayako Tsuchiya-Suzuki, MD, Masahide Yazaki, MD, Akinori Nakamura, MD, Junya Masumoto, MD, Akihiro Yachie, MD, Hiroshi Furukawa, MD, Hiromi Ishibashi, MD, Hiroaki Ida, MD, Kazuko Yamazaki, MD, Atsushi Kawakami, MD, and Kazunaga Agematsu, MD. Familial Mediterranean Fever in Japan Medicine 2012;91: 337-343

2. 学会発表

上松一永：家族性地中海熱とその鑑別疾患について 大阪免疫研究会 大阪
2012年12月

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

家族性地中海熱の周期性を規定する因子の探索

研究分担者 増本 純也 愛媛大学大学院医学系研究科 ゲノム病理学教授
プロテオ医学研究センター 自己炎症・自己免疫疾患病理解析部門長

研究要旨 家族性地中海熱の責任遺伝子産物のpyrinは、インフラマソームという病原体を認識して炎症に関わる蛋白質複合体を抑制的に制御すると考えられている。このため、インフラマソームを活性化する細胞傷害因子の探索が地中海熱に特徴的な周期性発熱という病態を理解するうえで重要であると考えられる。そこで、本研究では試験管内に人工的なインフラマソーム活性化系を構築し、インフラマソームを直接活性化する物質を同定する。現在までにインフラマソームの試験管内活性化系を構築することができ、精力的に活性化分子の探索を進めているところである。

A. 研究目的

家族性地中海熱の責任遺伝子産物のpyrinは、インフラマソームという病原体を認識し、炎症に関わる蛋白質複合体を抑制的に制御すると考えられている。このため、インフラマソームを活性化する細胞傷害因子の探索が地中海熱に特徴的な周期性発熱という病態を理解するうえで重要であると考えられる。そこで、本研究では試験管内に人工的なインフラマソーム活性化系を構築し、インフラマソームを直接活性化する物質を同定し、家族性地中海熱に特異的な治療方法の確立を目指す。

B. 研究方法

1) 最先端のコムギ胚芽無細胞蛋白質合成技術を使って、インフラマソームを構成するビオチン化タグを結合させたcryopyrin(NLRP3) および R260W、D303N、E627G変異体とFlagタグを結合させたASCを合成し、試験管内でインフ

ラマソーム再構成システムを構築する。

2) 1)で構築した試験管内インフラマソーム再構成アッセイシステムに対し、全国の家族性地中海熱症例から得た血清のうち、発作時と非発作時のペア血清のそろりものを選定し、インフラマソーム再構成を示す発作時血清中の周期性発熱原因物質を分離同定する。

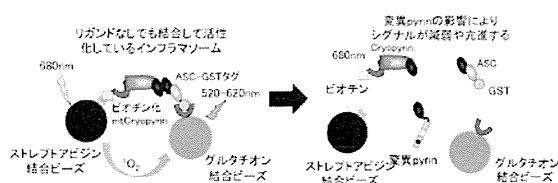


図 1. 家族性地中海熱の周期性発熱原因物質探索のため、インフラマソーム活性に与える影響を解析するアルファスクリーン（倫理面への配慮）

ヒト検体の診断外利用に関する倫理問題への対応：

本研究課題において、ヒト検体を用い

るため、プライバシーその他の患者さんの不利益にならぬよう、ヘルシンキ宣言に基づいた対応を行う。実験計画については、愛媛大学医学部倫理委員会に答申し、ヒアリングを受け許可を得た。具体的には、検体の抽出の時点で患者さんを特定できないような匿名化の手法を用いて実験をすすめる。しかしながら、他のデータにアクセスする場合には匿名化した情報管理者を介してアクセス可能とする(連結可能匿名化)。秘密を厳守し、患者さんの不利益とならない様実験をすすめた。

C. 研究結果

愛媛大学プロテオ医学研究センターの無細胞蛋白質合成装置によりインフラマソームを構成するビオチン化cryopyrin(NLRP3)、ビオチン化変異cryopyrin(NLRP3)、ビオチン化pyrin、ビオチン化変異pyrin、N末Flagタグ結合ASC、C末Flsgタグ結合ASC、ビオチン化カスパーゼ1、ビオチン化IL-1 β を合成することができた(図2)。ただし、変異cryopyrinと変異pyrinのうち、変異の部位によっては不溶化のため、アッセイ系への導入を断念した。

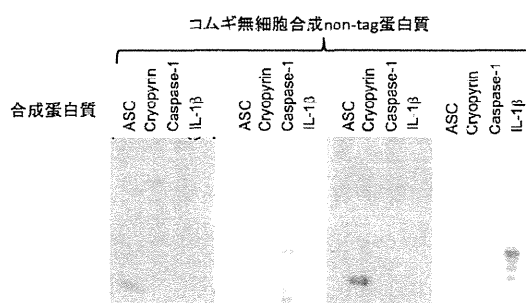


図2. 家族性地中海熱の周期性発熱原因物質探索のためのインフラマソーム構成タンパク質の無細胞合成

D. 考察

試験管内インフラマソーム再構成アッセイシステムにより、家族性地中海熱の原因遺伝子 *MEFV* の産物である変異pyrinのインフラマソーム活性化に与える影響を定量化できるとともに、直接インフラマソームを活性化する物質を同定する準備が整った。現在血清中の家族性地中海熱の周期性を規定する因子を探索しており、家族性地中海熱の予防、診断、治療のための基礎的な知見を得る予定である。

E. 結論

家族性地中海熱の原因物質の同定にむけたアッセイ系を確立することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 著者 : Migita K, Agematsu K, Masumoto J, Ida H, Honda S, Jiuchi Y, Izumi Y, Maeda Y, Uehara R, Nakamura Y, Koga T, Kawakami A, Nakashima M, Fujieda Y, Nonaka F, Eguchi K, Furukawa H, Nakamura T, Nakamura M, Yasunami M.

題名 The Contribution of SAA1 Polymorphisms to Familial Mediterranean Fever Susceptibility in the Japanese Population.

雑誌名 : PLoS One

巻号年頁 : 8巻2号2013年e55227頁査読有

2. 著者 : Higa N, Toma C, Koizumi Y, Nakasone N, Nohara T, Masumoto J, Kodama T, Iida T, Suzuki T.

題名 : Vibrio parahaemolyticus Effector Proteins Suppress Inflammation Activation by Interfering with Host Autophagy Signaling.

雑誌名 : PLoS Pathog

巻号年頁 : 9巻1号2013年e1003142頁査読有

3. 著者 : Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Nakamura A, Masumoto J, Yachie A, Furukawa H, Ishibashi H, Ida H, Yamazaki K, Kawakami A, Agematsu K.

題名 : Familial Mediterranean fever in Japan.

雑誌名 : Medicine (Baltimore)

巻号年頁 : 91巻6号2012年337-343頁査読有

4. 著者 : Karasawa F, Shiota A, Goso Y, Kobayashi M, Sato Y, Masumoto J, Fujiwara M, Yokosawa S, Muraki T, Miyagawa S, Ueda M, Fukuda MN, Fukuda M, Ishihara K, Nakayama J.

題名 : Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice

雑誌名 : Journal of Clinical Investigation

巻号年頁 : 122巻3号2012年923-934頁査読有

5. 著者 : Fujiwara M, Kobayashi M, Hoshino H, Uchimura K, Nakada T, Masumoto J, Sakai Y, Fukuda M, Nakayama J

題名 : Expression of Long-Form n-Acetylglucosamine-6-o-Sulfotransferase 1 in Human High Endothelial Venules.

雑誌名 : Journal of Histochemistry and Cytochemistry

巻号年頁 : 60巻5号2012年397-407頁査読有

6. 著者 : 金子賢太郎, 増本純也

題名 : Helicobacter pylori 感染と消化管自然免疫

雑誌名 : 日本ヘリコバクター学会誌

巻号年頁 : 14巻1号2012年24-28頁査読無

7. 著者 : 増本純也

題名 : 分子病理診断の現状と未来

雑誌名 : 臨床検査(医学書院)

巻号年頁 : 57巻13号2013年236-239頁査読無

8. 著者 : 増本純也 (分担執筆)

題名 : 3章自己炎症性疾患・自然免疫不全症の分子機構(パターン認識受容体とインフラマソーム)

著書名 : 自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患(診断と治療社)

巻号年頁 : 2012年40-46頁査読有

2. 学会発表

1. 演者：増本純也, 杉山梨乃, 中山淳, 倉田美恵, 宮崎龍彦

演題：家族性地中海熱のMEFV多型遺伝子産物による滑膜肉腫細胞からのサイトカイン産生の解析

第101回日本病理学会総会, 東京, 2012(示説)4/30/2012

2. 演者：杉山梨乃, 増本純也

演題： Defect of suppression of interleukin-8 secretion from SW982 synovial sarcoma cells by Japanese familial Mediterranean fever-derived pyrin mutations

国際エンドトキシン自然免疫学会2012, 東京, 2012(示説)10/26/2012

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

家族性地中海熱の経過中に海綿静脈洞病変を合併しデキサメサゾンが奏功した女性例—
FMFの臨床的多様性について

研究分担者 矢崎正英、中村昭則 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科
研究協力者 佐藤充人、岸田 大 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科

研究要旨 家族性地中海熱(FMF)の経過中に頭痛・複視を訴えた32歳女性例を報告する。頭部MRIでは、右海綿静脈洞周囲の腫脹を認め、Tolosa-Hunt症候群に近い病態と考え、デキサメサゾン投与を開始したところ、速やかに神経症状と、画像所見は改善した。今回の結果から、これまでTolosa-Hunt症候群と診断された海綿静脈洞周囲炎の一部にFMF症例が含まれている可能性が示唆された。またFMFの臨床症状は非常に多彩であり、本例のような多発脳神経障害の合併がありうる。

A. 研究目的

家族性地中海熱 (FMF) は地中海地方を起源とする民族に多発する周期性発熱疾患である。MEFV遺伝子の異常に起因し、治療にはコルヒチンが奏功する。本邦でも潜在的に多数の患者が存在することがわかってきており、これまで2回の全国調査が施行され^{1, 2)}、地中海地方の患者と本邦患者では臨床像や変異型が異なる可能性が示唆されている。しかしながら、未だ本邦FMF患者の臨床像については不明な点が多い。今回、FMFの経過中にTolosa-Hunt症候群様の多発脳神経障害を来した女性例を経験したので報告する。本患者の治療にはデキサメサゾンが有効であった。

B. 研究方法

患者は32歳女性。19歳頃より月経の度に38℃前後の発熱と腹痛、炎症反応の上昇を繰り返し認め、腹膜炎と診断されていた。21歳時には虫垂炎として虫垂切除

術を施行されている。その後FMFが疑われ、MEFV遺伝子解析でM694I/E148Qの複合ヘテロ接合であることが判明し、FMFと診断された。月経抑制薬(LH-RH製剤)によって腹膜炎の発症は抑制されていた。しかしながら入院3ヶ月前から頭痛、複視を自覚し、コルヒチンを使用したが生症状の改善はなく、精査目的で当科へ入院。

入院時現症では、眼球突出なく、甲状腺腫も認めなかった。神経学的所見では、右前頭部を中心に疼痛と複視を認め、眼球運動では右眼の外転障害、右上外転の障害を認めた。

血液検査所見では、血算、肝腎機能に異常なく、CRPは1.66 mg/dlと軽度の炎症反応の上昇を認めた。SAAは26.8 µg/mlと上昇していた。また甲状腺の自己抗体は陰性、ANCAも陰性であった。髄液検査では炎症所見はなく、結核菌、抗酸菌感染を示唆する所見も認めなかった。また血清・髄液中のACEやリゾチームの上昇も認めなかった。

胸部レ線では異常なく、心電図でも異常は認めなかった。頭部MRIでは右海綿静脈洞の腫脹があり、内頸動脈を取り囲むように病変が存在し、造影で内部が濃染されていた。また病変周囲の硬膜も肥厚を伴っていた(図)。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析と治療に関しては、本人・家族に対して十分なインフォームドコンセント得て行った。



図：ガドリニウム造影T1強調頭部MRI画像

右海綿静脈洞の腫脹と造影効果を認める(矢印)。

C. 研究結果

右三叉神経第1枝領域の疼痛、右動眼神経麻痺、右外転麻痺から海綿静脈洞近傍での多発脳神経麻痺を考え、頭部MRIを施行し、右海綿静脈洞の腫脹を認めた。症候的にTolosa-Hunt症候群を考え、デキサメサゾン16mg/日の点滴を開始し、複視、頭痛症状は速やかに消失した。デキサメサゾン投与開始後約2週間でのMRI所見では、投与前に認められた右海綿静脈洞の腫脹、硬膜の肥厚は消失していた。その後、デキサメサゾンは4mg/日まで減量したのち、プレドニン20mg/日とコルヒチ

ン1 mg/日の内服に切り替えた。以後、症状の再発は認めていない。

D. 考察

FMFにおける神経障害一症状は、頭痛以外は非常に稀である。これまで、無菌性髄膜炎、血管炎に伴う多発脳神経麻痺などの合併が報告されている。しかしながら、本症例のような海綿静脈洞周囲の限局した病変に伴う多発脳神経麻痺の報告はない。本例では、詳細な病理所見は明らかではなく、FMFの部分症として発症したものか、あるいは単なる合併なのかは不明であるが、デキサメサゾンで病変が改善していることから、血管炎や肉芽腫性炎から、海綿静脈洞周囲を走る脳神経へ障害を来たしたものと考えられた。

Tolosa-Hunt症候群は、1954年にTolosaらが有痛性外眼筋麻痺として報告したのが最初である。海綿静脈洞—上眼窩裂部の非特異的肉芽腫性炎症による動眼神経、滑車神経、三叉神経(通常は第1枝)、外転神経麻痺を呈し、ステロイドが著効する。本例では、症候的には非常にTolosa-Hunt症候群に近い病態と考えられた。今回の我々の症例の結果から、これまでTolosa-Hunt症候群と診断された海綿静脈洞周囲炎の一部にFMF症例が含まれている可能性が示唆された。

E. 結論

FMFの臨床症状は非常に多彩であり、本例の様な多発脳神経症状の合併がある。

文献

- 1) Tsuchiya-Suzuki A, et al. Clinical and genetic features of familial Mediterranean fever in Japan. J Rheumatol 2009;36:1671-1676
- 2) Migita K, et al. Familial Mediterranean fever in Japan. Medicine 2012;91:337-343

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, **Yazaki M, Nakamura A**, et al. Familial Mediterranean fever in Japan. Medicine 2012;91:337-343

2. 学会発表

なし

G. 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

FMF患者におけるインフラマソーム関連分子の遺伝子多型の解析

研究分担者 古川 宏 国立病院機構相模原病院臨床研究センター遺伝子診断・治療研究室長

研究分担者 右田清志 国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター 病因解析研究部長

研究要旨 MEFV遺伝子以外のFMFの発症に関与する遺伝的要因を解析する目的で、インフラマソーム関連分子の遺伝子多型を検討した。その結果IL-1 β レセプターアンタゴニスト[IL-1Ra VNTR]の遺伝子多型とFMFの関連は認めなかった。しかしSAA1 exon3[2995 (C/T), 3010 (C/T)]、プロモーター領域 [SAA1-13 (C/T)]の多型において、FMF患者においてはSAA-13T、SAA1.3のアレル頻度が有意に高いことが判った。SAAはインフラマソームの活性化分子であり、SAAとFMF発症との関連が考えられた。

A. 研究目的

家族性地中海熱（FMF）の遺伝型は常染色体劣性とされているが、海外の報告において、MEFV遺伝子変異のホモ接合体で発症する比率は限られていることが示唆されている。研究班の全国集計結果でも、FMF症例のなかで、MEFV exon10のホモ接合体の頻度は、10%前後にすぎないことが判明している。以上の結果は、FMFの発症に関わるMEFV遺伝子以外の遺伝的要因の存在を示唆されている。今回、本邦FMF患者を対象にインフラマソーム関連分子の遺伝多型と発症との関連を検討した。

B. 研究方法

FMFの確定診断がなされた89名のFMF患者を対象とした。これらFMF症例は、Tel-Hashomer criteriaに準じて、typical (n=43)、incomplete (n=39)の2群に分類した。今回検討した遺伝子多型は、IL-1 β プロモーター領域 [IL-1 β -511

(C/T)]、IL-1 β レセプターアンタゴニスト [IL-1Ra VNTR]、SAA1 exon3[2995 C/T, 3010 C/T]、SSA1プロモーター領域 [SAA1-13 C/T]である。遺伝子解析は、PCR-RFLP法で行った。コントロールとして健常人200名のDNAを用いた。

（倫理面への配慮）

遺伝子診断に関しては、長崎医療センターでの倫理審査を受け承認されている（家族性地中海熱の遺伝子診断 承認番号21003）。遺伝子診断に際しては、遺伝子診断の目的、方法、遺伝子診断により期待される利益及び不利益、その他必要な事項について十分な説明を行ない、自由意思によるインフォームド・コンセントを文書で受ける。全ての検体は採取後、速やかに患者個人識別情報を検体から取り除き、符号化・番号化による連結可能匿名化した上で、解析を行い、患者個人識別情報は、厳重に保管した。

C. 研究結果

FMFと健常人の間に*IL-1β-511 (C/T)*、*IL-Ra VNTR*の遺伝子多型に有意差はみられなかった。一方*SAA1*遺伝子多型において、FMF患者に置いては、*SAA1.3*のアレル頻度が有意に高いことが、明らかになった。FMF症例を*typical*、*incomplete*の2群に分け*SAA1*の遺伝子多型を比較したが、2群間に有意差は認められなかった。

D. 考察

今回、本邦FMF症例において*IL-1β*のプロモーター領域、*IL-1Ra*の遺伝子多型を検討したが、海外の報告と同様に健常人と差はなく、発症への関与は否定的であった。しかし*SAA1*の遺伝子多型において、*SAA-13T*アレル、*SAA1.3*の頻度が健常人に比べ有意に高く、FMF発症に関わる遺伝的要因の1つである可能性が示唆された。これら遺伝子多型は、本邦RA患者のAAアミロイド線維の形成に促進的に働くことが示唆されている。アミロイド線維は、インフラマソームの活性化因子であり、*SSA1*の遺伝子多型これら経路を介して、FMFの発症に関与していることが示唆された。

E. 結論

単一遺伝子疾患であるFMFに関して、*MEFV*遺伝子以外の発症に関わる遺伝的要因を検討した。その結果、AAアミロイドーシスのリスク因子である*SAA1-13T*、*SSA1.3*がFMFの発症に関わる遺伝的要因の1つであることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

4. Migita K, Agematsu K, Masumoto J, Ida H, Honda S, Jiuchi Y, Izumi Y, Maeda Y, Uehara R, Nakamura Y, Koga T, Kawakami A, Nakashima M, Fujieda Y, Nonaka F, Eguchi K, Furukawa H, Nakamura T, Nakamura M, Yasunami M. The Contribution of *SAA1* Polymorphisms to Familial Mediterranean Fever Susceptibility in the Japanese Population. *PLoS One*. 2013;8(2):e55227.
5. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, Ikenaka T, Nakayama H, Hashimoto A, Takaoka H, Arinuma Y, Okazaki Y, Futami H, Komiya A, Fukui N, Nakamura T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS One*. 2012;7(5):e33133.
6. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Hashimoto A, Komiya A, Fukui N, Nagai T, Hirohata S, Setoguchi K, Okamoto A, Chiba N, Suematsu E, Miyashita T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S. Association of Increased Frequencies of HLA-DPB1*05:01 with the Presence of Anti-Ro/SS-A