

201231062A

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 24 年度 総括・分担研究報告書

平成 25(2013)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 24 年度 総括・分担研究報告書

平成 25(2013)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	11
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	15
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 報告例と患者数の推計	22
鷲尾 昌一 (聖マリア学院大学看護学部)	
4. 炎症性疾患の新規バイオマーカーとしての TARC/CCL17 に 関する基礎的研究	34
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 症候群とアデノウイルス感染症におけるケモカインプロファイル の比較	41
楠原 浩一 (産業医科大学小児科)	
6. 成人スチル病に対するトシリズマブの長期使用に関する研究	46
高橋 裕樹 (札幌医科大学医学部消化器・免疫・リウマチ科)	
7. 脳脊髄液中の抗 U1RNP 抗体と液性因子に関する研究	53
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	58
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	63
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	69
宮原 寿明 (国立病院機構九州医療センターリウマチ・膠原病センター)	

11. 血清 Progranulin の慢性炎症性疾患病態への関連	77
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	81
-------------------	----

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

本年度は 3 年計画の最終年度であり、本研究班の大きな目標であった TNF 受容体関連周期性症候群（TNF receptor-associated periodic syndrome: TRAPS）診療ガイドラインを作成した。全国調査で抽出された 263 名の TRAPS 疑い患者のうち本研究報告書を作成時点で 167 名の *TNFRSF1A*, *FEMV*, *MVK* 遺伝子の全エクソンの異常の解析が終了した。10 名（10 家系）に *TNFRSF1A* 遺伝子の異常を認め TRAPS と診断した。さらにわが国で既報、未報すべての TRAPS 患者情報を収集し、わが国においては少なくとも 35 家系存在することを明らかにした。わが国 TRAPS 患者の臨床症状や経過、遺伝子異常の詳細が本研究で初めて解明された。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が、腹痛、胸痛、筋肉痛、眼症状は本邦 TRAPS できわめて乏しいことがわかった。TRAPS の症状に人種差があることがわかった。さらに遺伝子異常の種類によって、重症型、軽症型の大きく 2 種類に分類するが、遺伝子異常を見た時に 2 種類のどちらかを鑑別するための実験系を確立した。この系を用いて患者の症状や予後を若年時に早期から推測できるようになった。こうした一連の成果を反映させて、わが国初の TRAPS 診療ガイドラインを完成した。

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 講師

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

右田清志 国立病院機構長崎医療センター
部長
西小森隆太 京都大学大学院発達小児科学
准教授

A. 研究目的

TNF 受容体関連周期性症候群（TNF receptor-associated periodic syndrome: TRAPS）は、常染色体優性の家族性周期性発熱疾患である。繰り返す発熱に加えて、皮疹、筋痛、関節痛、腹痛、胸痛、結膜炎、眼窩周囲浮腫など多彩な症状を呈する代表的な自己炎症疾患の一つである。

TRAPS 患者は、欧米からは多数報告され

ているが、わが国を含めたアジアからの報告は少なく、わが国 TRAPS の実態が不明であったことが本研究を始める契機となった。今年度は 3 年間いただいた研究期間の最終年度に当たる。

TRAPS は Tumor necrosis factor (TNF) 受容体 1 型の変異が関連することが 1999 年に McDermott らによってはじめて報告された。その後、TNF 受容体 1 型の細胞外ドメインの 1 番目と 2 番目の Cysteine-rich domain (CRD) を中心に欧米では多くの報告がなされた。しかしながら本研究班を立ち上げた平成 22 年度の時点で、わが国では私どもの報告 (Horiuchi T, et al. *Int J Mol Med* 2004) をふくめ班員の楠原、井田、武井らの報告が散見されるにすぎなかった。わが国以外のアジアからの報告も皆無であった。1 年目の研究で全国調査を行って TRAPS 疑い患者を洗い出し、2 年目に TRAPS ならびにその他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 (高 IgD 症候群) の原因遺伝子異常を解析して TRAPS 患者を確定診断した。最終年の本年度には、わが国のすべての TRAPS 患者の情報を収集、解析し、わが国 TRAPS 患者の病態に即した TRAPS 診療ガイドラインを作成した。ここに 3 年目の研究成果を発表する。

B. 研究方法

本研究班の研究手法の全体像は、以下のように大きく 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、病態を解明し、第 4 段階は診療ガイドラインを作成する。

1 年目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。

2 年目は、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した。

3 年目の本年度は、私どもの研究の過程で新たに診断された TRAPS に加え、既報、未報の TRAPS 症例を発掘した。これら症例について、症状、検査所見、家族歴などについて詳細に検討した。その結果をもとにわが国 TRAPS 患者の特徴をまとめ、欧米の TRAPS 患者の特徴と比較した。

本年度は、遺伝子異常についても詳細に検討した。すなわち TRAPS における *TNFRSF1A* 遺伝子異常は、大きく構造に変化を与えて TNF 受容体 1 型が細胞表面に発現できなくなる構造的変異と、細胞表面への発現は妨げられない非構造的変異の、2 種類に分けられる。ヒト 293T 細胞の中に、蛍光色素 GFP に各遺伝子異常 cDNA を結合させた発現ベクターをトランスフェクションし、細胞内ならびに細胞表面での TNF 受容体 1 型の局在を検討した。GFP を発光させている 293T 細胞をトランスフェクションに成功した細胞と判断し、その細胞について蛍光標識した抗 TNF 受容体 1 型抗体で染色されるかどうか、その蛍光強度はどの程度かを検討し、各 TNF 受容体 1 型異常が細胞表面まで運ばれるか FACS で確認した。細胞内の TNF 受容体 1 型は、膜透過処理を行ったうえで蛍光標識した抗 TNF 受容体 1 型抗体を加えて FACS で細胞内の発現量を確認した。正常 TNF 受容体 1 型をトランスフェクションしたものをコントロールとして用いて各変異と比較した。

C. 研究結果

1. 遺伝子解析

昨年に引き続き遺伝子解析を進めた。研究1年目の2010年8月、全国の200床以上のすべての施設の内科、小児科2900施設から回答を受けた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。2013年5月7日現在、計167名についてこれら3遺伝子すべての解析を終了している。昨年度からさらに54例増えている。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

解析の終了した167例のうち10例(対立遺伝子頻度2.4%)にヘテロの遺伝子異常を認めた。うち8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363名においてはT90Iをより低頻度の7名(対立遺伝子頻度0.96%)にヘテロで認めた。統計的には $p=0.067$ で有意差はなかったが、T90IはTRAPS疑い患者で多く認められる傾向にあった。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2例のうちの1例は昨年度発見された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)である。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。

もう1例はV165M (TNF受容体1型の165番目のアミノ酸バリンVからメチオニンMへの置換: leader peptide の29個のアミノ酸を計算から外すとV136Mとも表記される)であった。今年度新たに発見された。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exon4にあり、TNF受容体1型の細胞外ドメインに4個あるCRDのうち3番目のCRD3内に位置していた。

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。Low penetranceの遺伝子異常を考えられ、遺伝子異常によって引き起こされるTNF受容体1型の構造変化は典型的な変異に比べて少ないと推測される。我々の解析した

TRAPS 疑い患者 167 例ならびに健常人 363 例には R121Q, P75L いずれも認めなかった。わが国において同様の意味をもつ遺伝子異常は T90I と考えられる。

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 T249A, H478Y, I591T, Y688C, M694I を検出した。これらの SNV はすべてヘテロであり TRAPS 疑い患者 167 例の中から各 1 例ずつ認めた。M694I のみは exon10 に位置しており家族性地中海熱に見られる典型的な異常として報告されている。このほかに非同義置換 SNV として, E84K, L110P, P115R, E148Q, R202Q, G304R, P369S, R408Q, S503C 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。いずれにしても我々の解析した TRAPS 疑い患者の中には典型的な家族性地中海熱の患者はほとんどいないと思われる。

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, D386N が 1 例ずつ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 V109L 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。

2. 本邦 TRAPS 患者の臨床症状の解析

わが国の TRAPS の実態を詳細に解析す

る目的で、今回の全国調査で発見した 10 例に加えて、今までにわが国で既報、未報のすべての TRAPS 患者情報を班員の先生方の努力でできうる限り収集した。現時点でわが国に存在するほぼすべての TRAPS 患者を把握したと考える。

その結果、わが国には少なくとも 35 家系の TRAPS が存在すること、もっとも多いのは T90I 異常であること、遺伝子異常は 13 種類と多彩であること、遺伝子異常の中には 5 種類は欧米に報告があるものであるが、残りの 8 種類はわが国でのみ見いだされたものであることが明らかになった。13 種類の異常のうち 9 種類までは CRD1, CRD2 に存在しており 30 家系に見られた。T90I は 20 家系, C59Y, T79M はそれぞれ 2 家系に認めたが、それ以外の異常は 1 家系のみ認めた。

Stojanov らは、世界中の TRAPS 約 150 症例をまとめて報告しており、その報告においてほとんどを占める欧米人の TRAPS とわが国の TRAPS との間で違いがあるかを比較した。本邦における TRAPS は発熱に加えて、関節痛、皮疹は欧米 TRAPS と同程度であり約 50% の患者に認めるが、腹痛、筋痛、結膜炎・眼窩周囲浮腫、胸痛などの症状はわが国では有意に少なかった ($p < 0.05$)。わが国の TRAPS は症状が軽いと考えられる。班員の鷺尾教授がまとめて報告した (Washio M et al. *Mod Rheumatol* 2012)。

3. T90I は大きな構造変化を伴わない

わが国の TRAPS 患者で認められる TNFRSF1A 遺伝子 (*TNFRSF1A*) 異常はさまざまであるが最も患者が多いのは

T90Iであった。一般的に TNFRSF1A 遺伝子 (*TNFRSF1A*) 異常は大きく 2 種類に分類することができる。大きく構造に変化を与えて TNF 受容体 1 型が細胞表面に発現できなくなる構造的変異と、細胞表面への発現は妨げられない非構造的変異の、2 つである。構造的変異が遺伝子異常としては重症である。我々はこの二つを区別する実験系を確立し、遺伝子異常の重症度を簡便に判断することを可能にした。たとえばわが国に多く見られる T90I は非構造的変異であり重症度としては軽い方に分類できる。その他の異常についても同じ実験系を用いて検討し、Cysteine に生じた変異ならびに T79M は構造的変異であり、それ以外は非構造的変異であった。

3. 遺伝子変異を効率よく解析する診断スコアの提唱

今回の研究では TRAPS 疑い患者の 6% にしか遺伝子情を発見できなかった。TRAPS である可能性が高い症例を選別して無駄な遺伝子解析をしなくて済むスコアが望まれる。同じ問題は欧米でもみられ、周期熱患者をすべて遺伝子解析しても実際に異常が見つかる可能性は我々の結果と同様に低い。我々は今回の 167 名のうち実際に遺伝子異常があった 10 名と異常のなかった残り 157 名とで症状、家族歴などで違いがないかを検討した。その結果、家族歴を有すること (OR12.71; 4.08-39.5, $p < 0.0001$)、発症年齢 20 歳未満 (OR3.78; 1.43-9.97, $p < 0.01$)、平均発作期間 5 日以上 (OR4.90; 1.57-15.28, $p < 0.005$) の 3 項目が有意に遺伝子異常の検出と相関した。この 3 項目を組み合わせると「我が国で TRAPS

遺伝子解析を行う際の判断スコア」を作成した。このスコアは換言すれば、原因不明の発熱を見た場合に TRAPS を疑うもっとも簡便な方法ともいえる。

判断スコア (TRAPS 研究班 2012) :

原因不明の発熱を呈する患者において、以下の 3 項目中 2 項目以上を満たす場合、TRAPS の遺伝子検査が勧められる。

1. 炎症性疾患の家族歴
2. 発症 20 歳未満
3. 炎症性症状が 5 日以上続く

注意 :

症状の持続期間が短い場合、家族性地中海熱、高 IgD 症候群の可能性についての検討が必要である。

成人発症スティル病、全身型特発性若年発症関節炎と診断されている患者でも、家族歴がある患者、治療抵抗性・再燃を繰り返す患者では、TRAPS の遺伝子検査が勧められる。

このスコアを、既報の本邦 TRAPS 患者と TRAPS 疑いであったが遺伝子異常が見いだせなかった症例に当てはめると、感度 90%、特異度 69%であった。

4. TRAPS 診療ガイドライン 2012

上記を含め過去 3 年間の研究成果をもとに、TRAPS 診療ガイドライン 2012 を作成した。臨床象、病態、診断方法、治療法について記載しており本報告書ならびに、当研究班ホームページで公開している。

<http://www.lnai-collagen-disease.com/>

D. 考察

過去 3 年間の遺伝子解析の成果として 167 例の TRAPS 疑い患者に *TNFRSF1A* (TRAPS 責任遺伝子)、*MEFV* (家族性地中海熱責任遺伝子)、*MVK* (メバロン酸キナーゼ欠損症責任遺伝子) の全コーディングエクソンの遺伝子解析を行い 10 名の TRAPS 患者を診断した。さらに既報、未報の全国の TRAPS 患者の情報を収集した。本研究班で発見した 10 例 (10 家系) を含めて 35 家系存在することを確認した。そのうち 20 家系は T90I であり、この異常は欧米に報告のないわが国独自のものであった。その他の家系は 12 種類の遺伝子異常のいずれかであった。うち 5 種類は欧米の遺伝子異常と共通するものであったが、T90I を含めて 8 種類はわが国独自のものであった。

今回の研究班の調査、研究の結果、わが国での TRAPS 患者の実態がはじめて明らかになった。

さらに集積し得た患者情報を詳細に解析することによって、わが国の TRAPS 患者の特徴を明らかにし得た。特筆すべき知見は、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。同様の傾向、すなわちわが国の周期熱患者で症状が軽いという傾向は、家族性地中海熱研究班 (研究代表者 右田清志博士) から報

告されている。

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推測されている。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検討を進めた。変異遺伝子異常を 293T 細胞に発現させて細胞表面に TNF 受容体 1 型が正常と同じく輸送されて発現できる異常 (すなわち ER に異常 TNF 受容体 1 型が貯留しない異常) と TNF 受容体 1 型が発現できず細胞内にとどまる異常 (すなわち ER に異常 TNF 受容体 1 型が貯留する異常) とを区別する系を確立した。たとえば T90I は家族歴がないなど典型的な TRAPS とは異なり浸透率が低い異常であるが、ER に貯留されないことが明らかになった。たとえば S350I は細胞内ドメインの変化であり ER に貯留しないことが予想されたが、その予想通り野生型と同じく細胞表面に受容体を発現した。我々の実験系を用いることによって、検出できた TNF 受容体 1 型異常を 2 つの種類に区別できることが明らかになった。

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を有する患者を認めた。また *MVK* の非同義置換も 1 例に認めたが健常人にも検出されたため病的な意義には議論がある。家族性地中海熱の原因変異として既報のものも 1 例ではあるが存在することから、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、TRAPS 診断のためには遺伝子解析は有効

な診断方法であることが再確認された。同時に、今回我々が拾い上げてきた TRAPS 患者は、少なくとも既知のほかの周期熱疾患の紛れ込みは多くないことがわかった。今回の研究でもわかったように、TRAPS 疑いと臨床的に診断して、詳細に遺伝子解析を行っても、実際に変異が見つかる確率は 6%と低い。この低い確率は欧米もほぼ同じである。欧米からも周期熱患者を見た時に遺伝子解析まで進めるための診断スコアが提唱されている (Gattorno, et al. *Arthritis Rheum.* 2008)。これには胸痛や腹痛、下痢などを加味して計算式にあてはめてスコアが >1.32 の時に TRAPS、家族性地中海熱、メバロン酸キナーゼ欠損症の遺伝子解析が勧められるとされる。ところが、前述したようにわが国の TRAPS では胸痛や腹痛が少ないため、この式にわが国患者を当てはめた場合、感度は 44.1%と極めて低くなるためわが国では使えない。そこで我々は、わが国の TRAPS の実態に即した遺伝子診断のためのスコアを作成した (本報告の研究結果の 3. を参照されたい)。このスコアは換言すると、TRAPS を強く疑わせる重要な項目を挙げているともいえる。周期熱の患者で、1. 炎症性疾患の家族歴、2. 発症 20 才未満、3. 炎症性症状が 5 日以上続く、の 3 項目のうち 2 項目以上を持っている場合は TRAPS を疑って遺伝子解析で確定診断をする必要がある。

以上述べた研究成果をもとに、TRAPS 診療ガイドライン 2012 を作成した。TRAPS の診断のためには、やはり TNF 受容体 1 型の遺伝子 (*TNFRSF1A*) 解析が重要である。これは家族性地中海熱とは少し事情が異なるという点で興味深い。家族性地中海熱で

はコルヒチンに対する治療反応性という良い指標があること、遺伝子異常を解析しても多型が多く遺伝異常だけでは確定診断できないからである。TRAPS の場合は治療反応性をみるときにコルヒチンのように特異的なものがないこと、*TNFRSF1A* の遺伝子多型が極めて少ないこと、があり家族性地中海熱と対照的であるとさえいえる。

E. 結論

わが国で初めてといえる TRAPS 診療ガイドラインを作成した。わが国の TRAPS の実態は全く分かっていなかったが、本研究で臨床症状に特徴があることが分かった。その成果を今回の診療ガイドライン作成に反映した。TRAPS 患者は主に欧米から報告されているが、わが国以外のアジア諸国からの報告は皆無といってよい。人種差に配慮した本ガイドラインはわが国のみならずアジアでも役立つことが期待される。臨床象、病態、診断方法、治療法について記載しており当研究班ホームページで公開している。

<http://www.lnai-collagen-disease.com/>

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, Horiuchi T, Tsukamoto H, Mitoma H, Kimoto Y, Uchino A, Nakagawa M, Oryoji K, Shimoda T, Harada M, Akashi K:
Prevalence and risk factors of vertebral

fracture in Japanese females with systemic lupus erythematosus.

Mod. Rheumatol. in press

• Ueda N, Tsukamoto H, Mitoma H, Ayano M, Tanaka A, Ohta S-I, Inoue Y, Arinobu Y, Niuro H, Akashi K, Horiuchi T: The cytotoxic effects of certolizumab pegol and golimumab mediated by transmembrane tumor necrosis factor α . *Inflamm. Bowel Dis.* in press

• Washio M, Nakano T, Kawaguchi Y, Takagi K, Kiyohara C, Tsukamoto H, Tokunaga S, Horiuchi T: Tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) in Japan: a review of the literature. *Mod. Rheumatol.* 23(2): 230-237, 2013

• Kusahara K, Hoshina T, Saito M, Ishimura M, Inoue H, Horiuchi T, Sato T, Hara T: Successful treatment of a patient with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome using a half-dose of etanercept. *Pediatr. Int.* 54(4): 552-555, 2012

• Umegaki N, Kira M, Horiuchi T, Itoi S, Tani M, Yokomi A, Tanemura A, Miyahara H, Hatanaka M, Kitamura H, Kitano E, Katayama I: Etanercept is safely used for treating psoriatic arthritis in a patient complicated with type 1 hereditary angioedema. *Mod. Rheumatol.* 22(6): 928-930, 2012

• Horiuchi T, Ohi H, Ohsawa I, Fujita T, Matsushita M, Okada N, Seya T, Yamamoto T, Endo Y, Hatanaka M, Wakamiya N, Mizuno M, Nakao M, Okada H, Tsukamoto H, Matsumoto M, Inoue N, Nonaka M, Kinoshita T: Guideline for Hereditary Angioedema (HAE) 2010 by the Japanese Association for Complement Research. *Allergol. Int.* 61(4): 539-562, 2012

• Harigai M, Tanaka Y, Maisawa S, and the JA21963 Study Group: Safety and efficacy of various dosages of ocrelizumab in Japanese patients with rheumatoid arthritis with an inadequate response to methotrexate therapy: A placebo-controlled double-blind parallel-group study. *J. Rheumatol.* 39(3): 486-495, 2012

• Miyasaka N, Hara M, Koike T, Saito E, Yamada M, Tanaka Y; GB-0998 Study Group: Effects of intravenous immunoglobulin therapy in Japanese patients with polymyositis and dermatomyositis resistant to corticosteroids: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mod. Rheumatol.* 22(3): 382-393, 2012

• Suematsu R, Ohta A, Matsuura E, Takahashi H, Fujii T, Horiuchi T, Minota S, Ishigatsubo Y, Ota T, Takei S, Soejima S, Inoue H, Koarada S, Tada Y, Nagasawa K: Therapeutic response of

patients with adult Still's disease to biologic agents; multicenter results in Japan. *Mod. Rheumatol.* 22(5): 712-719, 2012

• Kiyohara C, Horiuchi T, Takayama K, Nakanishi Y: Genetic polymorphisms involved in carcinogen metabolism and DNA repair and lung cancer risk in a Japanese population. *J. Thorac. Oncol.* 7(6): 954-962, 2012

• Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Tada Y, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Takahashi H, and the Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group: Cigarette smoking, alcohol consumption and the risk of systemic lupus erythematosus: a case-control study in a Japanese population. *J. Rheumatol.* 39(7): 1367-1370, 2012

• Tada Y, Suematsu E, Ueda A, Nagano S, Sawabe T, Nishizaka H, and Horiuchi T: Clinical factors to predict a poor prognosis and refractory disease in patients with polymyositis and dermatomyositis associated with interstitial lung disease. *Clin. Exp. Rheumatol.* 30(3): 450, 2012

• Niiro H, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Kikushige Y, Shima T, Noda K, Ota S-I, Tsuzuki H, Inoue Y, Arinobu Y, Iwasaki H, Shimoda S, Baba E, Tsukamoto H, Horiuchi T, Taniyama T, Akashi K:

CIN85 is required for Cbl-mediated regulation of antigen receptor signaling in human B cells. *Blood* 119(10): 2263-2273, 2012

• Yamamoto T, Horiuchi T, Miyahara H, Yoshizawa S, Maehara J, Shono E, Takamura K, Machida H, Tsujioka K, Kaneko T, Uemura N, Suzawa K, Inagaki N, Umegaki N, Kasamatsu Y, Hara A, Arinobu Y, Inoue Y, Niiro H, Kashiwagi Y, Harashima SI, Tahira T, Tsukamoto H, Akashi K: Hereditary angioedema in Japan: Genetic analysis of 13 unrelated cases. *Am. J. Med. Sci.* 343(3): 210-214, 2012

• Harashima S-I, Horiuchi T, Wang Y, Notkins AL, Seino Y, Inagaki N: Sorting nexin 19 regulates the number of sense core vesicles in pancreatic β -cells. *J. Diabetes Invest.* 3(1): 52-61, 2012

• Kiyohara C, Washio M, Horiuchi T, Tada Y, Asami T, Ide S, Atsumi T, Kobashi G, Takahashi H, and the Kyushu Sapporo SLE (KYSS) Study Group: Risk modification by CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in the association of cigarette smoking and systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Scand. J. Rheumatol.* 41(2): 103-109, 2012

• Okada Y, Shimane K, Kochi Y, Tahira T, Suzuki A, Higasa K, Takahashi A, Horita T, Atsumi T, Ishii T, Okamoto A, Fujio K,

Hirakata M, Amano H, Kondo Y, Ito S, Takada K, Mimori A, Saito K, Kamachi M, Kawaguchi Y, Ikari K, Mohammed OW, Matsuda K, Terao C, Ohmura K, Myouzen K, Hosono N, Tsunoda T, Nishimoto N, Mimori T, Matsuda F, Tanaka Y, Sumida T, Jamanaka H, Takasaki Y, Koike T, Horiuchi T, Hayashi K, Kubo M, Kamatani N, Yamada R, Nakamura Y, Yamamoto K: A genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. *PLoS Genetics* 8(1): e1002455, 2012

・上田尚靖、塚本浩、堀内孝彦：TRAPS の病態と病因. 炎症と免疫 20(3) : 293-298, 2012

・赤星光輝、堀内孝彦：Neonatal Fc 受容体阻害療法の可能性. リウマチ科 47(5) : 543-550, 2012

2. 学会発表 (シンポジウム、招待講演を抜粋)

・堀内孝彦：TNF 阻害薬の作用機序 —共通点と相違点、そして臨床効果との関連—. 第 22 回日本脊椎関節炎学会総会. 2012 年 9 月 29 日, 大阪

・堀内孝彦：全身性エリテマトーデス —病態解明と治療の最近の進歩—. 第 27 回日本臨床リウマチ学会総会. 2012 年 11 月 24 日, 神戸

・堀内孝彦：突発性浮腫・遺伝性血管性浮腫.

第 47 回日本成人病 (生活習慣病) 学会学術集会. 2013 年 1 月 12 日, 東京

・堀内孝彦：我が国における TRAPS (TNF 受容体関連周期性症候群) の特徴.

第 116 回日本小児科学会学術集会. 2013 年 4 月 20 日, 広島

3. その他の研究分担者の「研究発表」については各分担報告書を参照されたい。

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5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-18(IL-18)といった炎症性サイ

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

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

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12例、ベーチェット病が3例、その他不明熱症例が18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13例であり、うち1例(症例11)は臨床症状から TNF 受容体関連周期性発熱症候群と診断し、エタネルセプトを投与していた。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13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 Muckle-Wells 症候群の母親はその後急性リンパ性白血病を発症し、血液内科で造血幹細胞移植が予定されている。

今後造血幹細胞移植により、Muckle-Wells 症候群の症状が改善するのか注意して経過観察をする必要がある。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)。

昨年から引き続いて行った遺伝子変異の検索では家族性地中海熱の5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

昨年度より引き続き遺伝子検査を行い、今年度は新規に家族性地中海熱を1例診断した。本症例ではコルヒチン投与により発熱発作が抑制され、臨床的にも家族性地中海熱の典型的な症状を呈した。また本症例では今まで様々な診療科に入院し、精査が行われたが、確定診断に至っていなかった。今後も疑い症例に対して遺伝子検査を行っていくことで、新たに診断される症例が増えてくると考えられる。

また Muckle-Wells 症候群の親子例では母親側が急性リンパ性白血病を発症し、初回寛解導入療法に対して不応性であったことから今後骨髄移植を予定されている。骨髄移植により血球がドナーのものとなることで、理論上は Muckle-Wells 症候群は改善するはずである。造血幹細胞移植後の本症例に対して、疾患活動性の評価および遺伝子変異の再検を予定している。自己炎症疾患の治療薬は本邦において適応が限られているだけでなく、高価であることから、本症例で造血幹細胞移植後に Muckle-Wells 症候群が完治するようであれば、今後は造血幹細胞移植も自己炎症疾患の治療選択となりうるだろう。

E. 結論

これまで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。今年度も新規家族性地中海熱症例を診断することができた。

G.研究発表

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/ー
4	男性 発熱発作を繰り返す。コルヒチン有効。	M694I/ー
5	女性 発熱・腹痛	M694I/M694I
6	女性 症例2の母親。無症状	L110P・E148Q/ー
7	女性 発熱、肝障害、関節痛	E148Q/ー
8	女性 ベーチェット病。発熱発作を繰り返す。	E148Q/ー
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。	ー
12	女性 月に一度発熱。慢性扁桃腺炎と診断。	ー
13	男性 症例1の父親。無症状。	E148Q/ー M694I/ー
14	女性 症例1の母親。無症状	M694I/ー
15	女性 症例1の叔母。朝のこわばり、関節痛	変異なし

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
17 男性 9歳から発熱、腹痛	L110P/- E148Q/- M694I/-	未検	なし	未検
18 男性 双子の兄がJIA 発熱	なし	なし	なし	未検