

201231082A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（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~~促進~~に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神戸 直智

平成 25 年（2013 年）4 月

目 次

I.	総括研究報告	
	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	----- 2
	神戸 直智	
II.	分担研究報告	
1.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスにおける疾患別登録基準および診断フローチャートの作成	----- 14
	神戸 直智・金澤 伸雄	
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	----- 19
	西小森 隆太	
3.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスに対する治療評価—生物学的製剤による治療—	----- 22
	武井 修治	
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	----- 30
	池田 啓	
5.	ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシス末梢血CD14 陽性単球を用いた刺激時の発現遺伝子網羅解析	----- 37
	松江 弘之	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	----- 40

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

NOD2 変異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

研究代表者 神戸直智 千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 准教授

研究要旨

ブラウ症候群および若年発症サルコイドーシス（EOS）は、NOD2 遺伝子の変異を背景とする肉芽腫性疾患である。本症の病態を明確化する上で、本年度も昨年度に継続して、1）国際レジストリーへの登録に適合した形での臨床情報の収集を行う。2）疑い症例に対する遺伝子診断の機会を提供するとともに、同定された NOD2 変異の活性化の確認を行う。3）関節エコーを用いた病勢評価によって治療のターゲットとなる病態を明確化する。4）分子機構に基づいた病態解明をめざし、NOD2 変異が確認された患者での関連遺伝子の網羅解析を行うことを目的とした。

1）に関しては、自己炎症性疾患を統合する形で「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班（研究代表者：平家俊男・京都大学・教授）が本年度（平成 24 年度）より組織され、本研究事業での成果を引き継ぎ、継続していく予定である。このため、本年度は、作成した診断基準やこれまでの事業で収集した患者情報を基として、疾患別登録基準および診断フローチャートの作成を行った。

2）に関しては、遺伝子検査の提供を継続し、本年度はさらに 2 症例が同定された。同定された変異は、現時点ではいずれも *in vitro* での NF- κ B 活性化が認められ、活性の検証は同定された変異が疾患に関連するものであるかを評価する際に有用であることが確認された。

臨床的アプローチとしては、本症に対する生物学的製剤による治療効果を評価するため、継続して治療を行った 6 症例（男女各 3 例）を対象に、その有効性を検討した。その結果、抗 TNF モノクローナル抗体製剤であるインフリキシマブ（IFX）やアダリムマブ（ADA）は本症の関節炎、全身性炎症病態（倦怠感、結節性紅斑）、ブドウ膜炎に対し有効であり、特に、ブドウ膜炎未発症の 2 例では 13 歳に達してもブドウ膜炎を発症しなかったことから、本症に対する抗 TNF 製剤の有効性が示唆された。この際に、病勢を適切に評価する指標の重要性が再確認され、これに応えるため、3）に挙げた関節エコーを用いた病勢評価の有用性を検証した。8 症例を網羅的に評価した結果、本疾患の関節病変が関節滑膜炎よりも腱鞘滑膜炎優位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、また明らかな関節滑膜炎も散見されることが分かった。一方、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り、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。

4）に関しては、昨年度までの検討から、定常状態では NOD2 の発現は患者検体においてはむしろ抑制されていることを確認したため、本年度は分離した細胞を NOD2 の発現誘導作用が報告されているビタミン D3 共存下に 24 時間培養し、その細胞に発現する遺伝子を網羅解析した。しかしながら、抗菌ペプチドや NOD2 の発現誘導が期待通り見られたにもかかわらず、HEK293 細胞に疾患関連 NOD2 変異体を導入した際に確認される NF- κ B の活性化は、残念ながら確認されなかった。引き続き NOD2 変異が患者において肉芽腫を誘導する分子学的機序の解明を目指して検討を継続している。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び所属機関における職名

松江弘之・千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 教授

池田 啓・千葉大学医学部附属病院アレルギー膠原病内科 助教

武井修治・鹿児島大学医学部保健学科教授

西小森隆太・京都大学大学院医学研究科発達小児科学 准教授

金澤伸雄・和歌山県立医科大学医学部皮膚科 講師

研究協力者氏名・所属研究機関名及び所属機関における職名

平家 俊男・京都大学大学院医学研究科発達小児科学 教授

八角 高裕・京都大学大学院医学研究科発達小児科学 助教

小原 収・かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部 部長

井澤 和司・京都大学大学院医学研究科発達小児科学 医員

山遠 剛・鹿児島大学医学部歯学部附属病院 医師

久保田知洋・鹿児島大学医歯学総合研究科 大学院生

山崎 雄一・鹿児島大学医歯学総合研究科 医師

中野 倫代・千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 助教

佐藤 貴史・千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 助教

森 祐美子・千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 技術補佐員

A. 研究目的

ブラウ症候群 (Blau syndrome) および若年発症サルコイドーシス (early-onset sarcoidosis, EOS) は、細胞内のパターン認識受容体の 1 つである NOD2 遺伝子の変異を

基盤とし、明らかな外因性因子の存在なしに肉芽腫を来す疾患である。家族歴を有するものはブラウ症候群、個発例は若年発症サルコイドーシスと呼ばれるが、両者は同一の疾患であり、皮疹、関節炎、ブドウ膜炎を三主徴とし、主として4歳以下で発症する自己炎症疾患の1つとして注目を集める。

本疾患は、今日までに国内で30例ほどの症例が集積されているが (Okafuji I, et al. *Arthritis Rheum* 2009)、疾患概念が十分に浸透していないため、未だ適切に診断されていない症例が存在する。このため、疾患概念の浸透を図るとともに、集積された情報を有効に活用するためのシステム作りが求められている。また、病態解明とそれに基づく治療法の提唱を進めるためにも、遺伝子診断を行う環境の整備が求められ、本年度も臨床症状から本症が疑われる症例を対象に NOD2 遺伝子変異の検討を進めた。

本症の診療基盤の開発のために、特に鹿児島大学小児科において長期の観察期間を有する症例の臨床像から、時間軸を踏まえた診断の基本提案を行ってきた。これらの症例は、本症と確定診断される前は、全例が若年性特発性関節炎 (JIA) と診断されていた。本邦では、生物学的製剤が2003年から関節リウマチで導入され、ほぼ同じ時期に JIA に対する臨床治験も開始されたため、ブラウ症候群/EOS と診断された全症例に生物学的製剤が導入されており、結果として本症に対する臨床データとして集積することが可能である。

また、本疾患において日常生活を障害する要因となる関節炎は、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対して、超音波検査 (関節エコー) の有用性が言われており、特に安静や放射線被曝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、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に、関節エコーによる関節病変の詳細な観察を行った。

遺伝子異常は背景とした病態解析としては、アミノ酸置換を伴う遺伝子変異の結果として、NOD2 がリガンドによって活性化された時と同じ機序で活性化されて肉芽腫を形成すると考えられるものの、NOD2 の活性化によって肉芽腫を形成する詳細なメカニズムは解明されていない。そこで、肉芽腫形成の分子機序を明らかにすることで、現時点では特異的な治療法が確立していない本症に

対する分子メカニズムに基づいた治療法の確立を目指した。

B. 研究方法

本年度（平成 24 年度）より、厚生労働省難治性疾患克服研究事業として我々の研究に先行する形で解析が進められていた、いくつかの自己炎症性疾患を統合する形で、「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班（研究代表者：平家俊男・京都大学大学院医学研究科発達小児科学・教授）が組織され、我々の研究班もこれに分担研究者として加わり、本研究事業での成果を引き継ぎ、継続していく予定である。本年度は、本研究事業で作成した診断基準を基として、疾患別登録基準および診断フローチャートの作成を行った。

特に、疾患別登録基準の作成に関しては、欧州で先行する患者登録システムである Eurofever と整合性のある形で患者登録システムを構築するため、Eurofever での登録基準と、これまでの我々の 3 年間の本事業で作成した診断基準との摺り合わせを行った。また、診断フローチャートの作成に関しては、これまでの我々の 3 年間の本事業で収集した患者情報を基に、これを包括する形で作成した診断基準を活かして、作成した。

臨床症状がから本症として疑われる症例に関しては、引き続き遺伝子診断の機会を提供した。具体的には、患者本人（被験者が未成年の場合には、その保護者）に対して説明を行い、文章による同意を得た後に採取した全血/PBMC より、ゲノム DNA を抽出し、NOD2 の全エクソンの遺伝子配列を解析した。

臨床症状の評価、特に生物製剤の有用性に対する評価は、対象患児の診療録から、生物製剤の導入時、導入後 3、6 か月、1 年、3 年、および最終受診日の臨床所見や検査データを後方視的に収集し、その変化を検討した。その際に、本症の臨床症状に対して、その疾患活動性を客観的に評価する指標は現時点では存在しない。そこで、関節炎病態の変化については、関節痛、関節腫脹、手背足背の囊腫状腫脹、指趾の屈曲拘縮の項目に、また全身の炎症病態については倦怠感と結節性紅斑の項目に分けて検討し、理学所見や自覚症状から－～++で評価した。ブドウ膜炎の活動性については、眼科的検査で得られた前眼部（前房内炎症、虹彩癒着）、硝子体混濁、後眼部（乳頭浮腫、網膜血管炎）等の所見や、1 日のステロイド点眼回数（両眼の合計）を総合して評価した。投与された生物製剤の有

効性については、その累積継続率でも評価した。

関節エコーによる評価は、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、千葉大学医学部附属病院皮膚科/小児科、あるいは千葉県こども病院アレルギー・膠原病科で外来加療されている遺伝子診断の確定している 8 症例を関節エコーで網羅的に評価した。部位は 40 関節（DAS28 関節+足関節+MTP 関節）における 100 滑膜部位（関節滑膜/腱鞘滑膜/滑液包）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。

分子の活性に着目した病態解析に関しては、NOD2 遺伝子の変異を背景として肉芽腫を来すブラウ症候群/EOS では、*in vitro*において変異 NOD2 遺伝子を HEK293 細胞に導入した際に NF- κ B の転写亢進が確認されることが報告されている。しかしながら、この現象が実際に患者の中で起こっているのか、あるいはどのようなメカニズムによって NOD2 の変異が肉芽腫を誘導しているのか手がかりがない。そこで、病態解析の手がかりを得るため、NOD2 を発現する細胞は末梢血では単球であることから、患者および健常者から、インフォームドコンセントを得た後に末梢血を採取し、Ficol 比重遠沈にて単核球を分離後、FITC 標識 CD14 陽性細胞で染色、抗 FITC 磁気ビーズを用いて染色された細胞を単離、続いて単離した細胞に目的とする NOD2 遺伝子を発現誘導するために、ビタミン D3 を添加して 24 時間培養し、その後細胞より発現する mRNA を抽出し、Agilent 社の 40K x 4 の Gene Chip を用いて、発現する遺伝子の網羅解析を行い、健常者と比較した。

（倫理への配慮）

疾患別登録基準および診断フローチャートの作成に際して、その基盤となった患者情報の収集にあたっては、人権擁護を配慮し、全般にわたり、世界医師会による「ヘルシンキ宣言」、文部科学省および厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して進めた。診断確定例および疑い例に対して、詳細な臨床情報を聴取するに際しては、計画の審査をうけ、千葉大学倫理審査の承認を受けている（受付番号 1150）。また、本研究成果を包括する形で組織された「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班（研究代表者：平家俊男・京都大学・教授）」においても、研究代表者が

所属する京都大学において計画書の承認を得ている。

遺伝子解析に当たっては、研究代表者の所属する千葉大学に加えて、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、承認を得ており (G-432)、その内容を忠実に順守して研究を行っている。

患者検体の取り扱いに関しても、千葉大学の倫理審査委員会の審査の承認をうけており、実施に当たっては、診療上の不利益を被ることのない範囲内で関係者の人権および利益の保護について十分配慮して、書面にてインフォームドコンセントを得て収集され、試料を実験に供している。

また本疾患の希少性ととも重要性から、患者由来 iPS 細胞を樹立し、本研究課題での成果を受け継ぐ形での検証を予定しており、iPS 細胞作成に関わる申請を行い、細胞樹立機関である京都大学 (CiRA)、および患者検体を採取する場所としての千葉大学において、該当する生命倫理申請を行い、承認を得た。

C. 研究結果

1. 疾患別登録基準の作成

これまでの本研究事業で作成した診断基準を基にして、表 1 として掲げる様に、患者登録のための本邦での登録基準を作成した。

2. 診断フローチャートの作成

本邦での患者登録を円滑に進めるため、診断フローチャートを作成した。

【診断フローチャート】

皮膚症状、関節症状、眼症状が 3 主徴である。
→ 症状の確認 (疑い例)

1) 皮膚症状 (初発症状となることが多い。ステロイド外用に対する反応性は乏しい。ときに数ヶ月の単位で自然寛解と増悪を繰り返す)

- 充実性の丘疹。痒みなどの自覚症状は殆ど無い。ときに潮紅し、あるいは乾燥する。
- 結節性紅斑。

2) 関節症状 (レントゲン検査では骨破壊は認めない。腫脹による運動制限のため、痛み

は伴わず、他動は制限されない。ただし、進行例では関節の変形や脱臼、拘縮を来す。)

- 関節背面が無痛性に囊腫状に腫脹する。
- 手指、足趾がソーセージ様に腫脹する。

表 1 本邦での登録基準

登録基準	<p>1-3 の何れか該当し、4 の疾患を除外出来た症例</p> <p>1. NOD2 遺伝子変異を伴う炎症性疾患</p> <p>2. 主要症状としての 3 主徴 (皮膚症状、関節症状、眼症状) を認め、以下の 2 項目のいずれかを満たす症例</p> <p style="margin-left: 20px;">a) 組織学的に肉芽腫を認める</p> <p style="margin-left: 20px;">b) BHL を認めない</p> <p>3. 3 主徴 (皮膚症状、関節症状、眼症状) のいずれかを認め、以下の項目を 1 つ以上満たす症例</p> <p style="margin-left: 20px;">a) 関節背面に特徴的な囊腫状腫脹を認める</p> <p style="margin-left: 20px;">b) 家族歴を認める</p> <p style="margin-left: 20px;">c) 4 歳以前の発症である</p> <p>4. 除外疾患</p> <ul style="list-style-type: none"> - 感染症 (染色検査・培養検査・PCR) - 免疫不全症 (NBT・免疫グロブリン・リンパ球サブセット・ワクチン反応が正常であること) - クローン病 - 全身性肉芽腫性血管炎 - 原発性胆汁性肝硬変
到達目標	<p>主要到達目標：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 小児サルコイドーシスの臨床像の把握と臨床的/生物学的病型分類の確立 <p>副次到達目標：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ブラウ病並びに小児期発症サルコイドーシス全般の予後に関するデータの収集 ・ 疾患活動性の指標となる臨床マーカーの確立 ・ ブラウ病並びに小児期発症サルコイドーシスに対する有効治療法のデータ蓄積 ・ 遺伝子情報入手可能な患者に関して遺伝子型と臨床像の関連性の評価

3) 眼症状（進行例では、失明する。他の臨床症状に遅れて出現する。）

- ブドウ膜炎。
- 虹彩後癒着，結膜炎，網膜炎，視神経萎縮など病変は全眼球性に及ぶ。

→ 上記の 1), 2), 3) の小項目にあげた臨床症状の少なくとも1つを 3 項目共に認めるものの，遺伝子検査や病理組織検査で所見がないもの，あるいは未検査のものを「臨床的診断例」とする。なお，その際には診断の参考項目も参照する。

【診断の参考項目】

- 成人のサルコイドーシスに特徴的な両側肺門部リンパ節主徴は原則として認めない（ただし，肺病変の存在を否定するものではない）。
- 多くの症例では，4歳以前に何らかの臨床症状が認められる。
- BCG 接種が臨床症状出現の契機となることがある。
- 高熱や弛張熱を認めることがある。
- 眼症状の出現までには時間がかかることから，3主徴が揃うまで漫然と経過をみるのではなく，視力予後の改善のためには皮膚症状（家族歴を認める場合）・関節症状が出現した段階（家族歴を認めない場合）で，組織診断（確定例）あるいは遺伝子診断（組織学的診断例）を考慮することが望ましい。

3. NOD2 遺伝子変異の同定

本年度は，新たに2例に遺伝子変異を同定し，それらは p.Arg587Cys，p.Arg334Trp とアミノ酸置換を伴う変異であった。いずれも *in vitro* の 293T 細胞への遺伝子の強制発現系において，NF- κ B の活性化が確認された。この結果，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。

今回同定された2症例を加え，本研究で得られた変異のまとめを示すと，p.Arg334Trp 12例，p.Arg587Cys 6例，p.Arg334Gln 4例，p.Glu383Gly 2例，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。

4. 生物製剤の有用性

検討対象とした生物製剤は，抗 TNF 製剤であるインフリキシマブ（IFX），アダリムマブ（ADA），エタネルセプト（ETA）の4種類と，抗 IL-6 製剤であるトシリズマブ（TCZ）である。これらの生物製剤はそれぞれの製剤の通常の方法に従って投与された。すなわち，IFX は 5mg/kg を 6 週ごとまたは 10 mg/kg を 8 週ごとに点滴静注で投与された。また皮下注製剤である ADA と ETA は，それぞれ 30mg を 2 週ごと，あるいは 0.4mg/kg を週 2 回の間隔で投与された。TCZ は点滴静注で 8mg/kg が投与され，その投与間隔は 2 週間隔または 4 週間間隔であった。TCZ で治療中の 1 症例を除き，すべての症例で週 1 回のメトトレキサート（MTX 10mg/m²/w 内服）が併用された。

4-1. 関節所見

抗 TNF 製剤である IFX や ADA を導入した 5 例では，全例で関節痛が，4 例で関節腫脹が改善し，うち 2 例で囊腫状腫脹の軽減がみられた。しかし ETA を導入した 2 例では関節痛や関節腫脹に対して有効例と無効例がそれぞれ 1 例ずつみられ，無効例は TCZ へ変更された。抗 IL-6 製剤である TCZ を導入した 2 例では，いずれも関節炎病態に対する改善は得られず，IFX へ変更された。また，手背足背の囊腫状腫脹については，生物製剤導入後の改善は IFX で治療した 2 例にとどまった。一方，指趾の屈曲拘縮については，抗 TNF 製剤，抗 IL-6 製剤のいずれにおいても，改善は認められなかった。

4-2. 全身症状および皮膚所見

倦怠感 は生物製剤導入時に 5 例に認められ，そのうち抗 TNF 製剤で治療された 4 例中 3 例で倦怠感が改善した。一方，抗 IL-6 製剤で治療された 1 例は改善がみられなかった。皮膚症状としてみられる結節性紅斑は，生物製剤導入時に 4 例で認められ，IFX が導入された 3 例の全例で消失した。また生物製剤導入時に結節性紅斑を認めなかった 5 例では，治療中に出現することはなかった。

4-3. ブドウ膜炎

生物製剤導入時までに活動性のブドウ膜炎を認めた例は 4 例あり，うち 3 例に IFX が，1 例に TCZ が導入された。その結果，IFX が導入された 3 例では全例でブドウ膜炎の改善がみられたが，TCZ が導入された 1 例では眼科所見に改善がみられなかった。一方，生物製剤導入時に，ステロイド点眼によりブドウ膜炎が寛解していた症例は，生物製剤投与中にブドウ膜炎が悪化することはなかった。

た。また、ブドウ膜炎を発症していない状況で生物製剤が導入された2例(導入時の年齢はそれぞれ5歳4か月、6歳)では、最終的にはそれぞれIFXとETAで治療が継続されたが、最終受診時の年齢がそれぞれ13歳9か月、13歳3か月に達しても、ブドウ膜炎の発症を認めなかった。

生物製剤導入後のブドウ膜炎の変化を、両眼における1日のステロイド点眼の使用回数で評価したところ、IFXを導入した3例の全員で導入後に点眼回数が減少し、うち1例は点眼が中止された。一方、TCZはブドウ膜炎のある1例で導入されたが、点眼回数は不変であった。

4-4. 検査所見および治療

臨床所見を反映した検査所見の変動や治療の変化が見られた。

生物製剤導入時に赤沈値(ESR)の亢進を認めた例のうち、IFX導入例の2例中2例で、ETA導入2例中1例でESRが正常化した。TCZを導入した2例ではいずれもESR値の改善は見られなかった。CRP値もESRを反映した変化を示し、抗TNF製剤導入例では陰性化した。一方、TCZでもCRPは陰性化した。TCZがCRP産生を直接誘導するIL-6の抗受容体抗体であることから、その評価はできないと考えた。

MMP-3値は、関節リウマチRAやJIAの関節炎において軟骨や骨破壊の指標とされているが、本症においても生物製剤導入時には全例で増加していた。このMMP-3の生物製剤導入後の変化を検討すると、抗TNF製剤導入例では7例中5例で改善した。一方、抗IL-6製剤を導入した2例では、TCZ導入後にMMP-3はむしろ増加し、いずれもIFXへ変更された後に改善した。

4-5. 生物製剤の継続率

本症の6例に対し4種類の生物製剤が導入され、そのうち1st生物製剤として選択されたのは、抗TNF製剤が5例、抗IL-6製剤が1例であった。1st生物製剤導入後、平均5.4年にわたって治療経過が観察されたが、1st生物製剤としてIFXやADAで治療が開始された3例では、いずれも最終評価時まで同じ生物製剤が継続された。一方、ETAが導入された2例では、1例は最終評価時までETAによる治療を継続したものの、もう一例では効果が不十分なためにTCZへ変更された。しかし、この症例ではTCZでも十分な効果が得られず、最終的にはIFXへ変更して病態は寛解したため、最終評価時までIFXが継続された。

また、1st生物製剤として抗IL-6製剤であるTCZが選択された症例では、導入後に症状や検査値の悪化がみられた。この症例では約2か月後にIFXへ変更されて寛解が得られ、最終評価時までIFXが継続された。以上の結果から、1st生物製剤から3rd生物製剤までの治療経過を抗TNF製剤と抗IL-6製剤に分けて検討すると、本症に対する抗TNF製剤の継続率は、抗IL-6製剤より有意に優れていた。

5. 関節エコーによる評価

8症例(うち男性6症例)の関節エコー施行時の年齢は、5歳6ヶ月から37歳8ヶ月(中央値12歳6ヶ月)であった。プレドニゾロンが3症例、メトトレキサートが6症例、TNF阻害薬が3症例で投与されていた。関節エコー施行時の圧痛関節数(/40関節)は0-4(中央値0)、腫脹関節数(/40関節)は1-25(中央値4)、患者全般評価VAS(/100mm)は0-65mm(中央値9mm)、CRPは0.0-0.6mg/dL(中央値0.1mg/dL)、DAS28-ESRは1.2-4.5(中央値2.55)であった。

全症例で手関節および足関節に腱鞘滑膜炎を認めた。また手指屈筋腱にも高頻度に腱鞘滑膜炎を認めた。一方、手関節屈筋腱群に腱鞘滑膜炎の所見を認める症例はいなかった。関節滑膜炎の評価を腱鞘滑膜炎と比較すると、頻度はやや低く、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。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。

関節エコー所見と従来の関節炎評価方法であるDAS28-ESRとの相関は、少数の解析ではあるものの、DAS28-ESRと総GSスコア/総PDスコアは有意に相関することが示された。これにより本症の患児全体としての滑膜炎は、DAS-ESRにより評価可能であることが示された。さらに、診察所見と関節エコーでの所見を比較すると、関節エコーでは約半数の関節で滑膜炎が検出されたが、診察上所見(圧痛または腫脹)を認めた関節は、320関節中70関節(22%)にとどまった。

6. 末梢血CD14陽性細胞を用いた発現遺伝子の網羅解析

抗凝固剤としてヘパリン添加して採取した末梢血から比重遠沈にて単核球を採取した後、FITC標識した抗CD14抗体でラベルし、さらに抗FITC標識磁気ビーズを用いることで、純度95%以上で単球が得られる。ビタ

ミン D3 を添加した CD14 陽性細胞より mRNA を抽出し、共同研究先であるかずさ DNA 研究所(木更津市)へと検体を送付し、mRNA の純度を評価した後、発現する遺伝子の網羅解析を行った。

その結果、ビタミンD3を添加することで、これまで発現誘導すると報告されている抗菌ペプチド (CAMP/LL37) とともに、NOD2 の発現が優位に発現増強していることが確認され、実験系としては予定通り、機能していることが確認された。しかしながら、健常者との比較検討で、NOD2 変異を有する患者から採取した末梢血 CD14 陽性細胞において、ビタミンD3添加によってNOD2の発現が増強したにもかかわらず、*in vitro* の系で遺伝子を細胞株へと強制発現させた時に観察されるようなNF- κ Bが活性化していると示唆する遺伝子発現の推移は確認できなかった。

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 37.5%、p.Arg587Cys が 18.8% で 2 つの変異ではほぼ 50% をしめた。その後、p.Arg334Gln が 12.5%、p.Glu383Gly 6.3% と続き、他はそれぞれ 1 例のみであった。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。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は今年度終了時点でも例外なく、再確認されている。本指標は新規変異を持つ患者診断に重要である。さらに症例によって例外なく認められる事実であることは、病態・発症機序を考える上で大変重要な知見であると考えられた。

治療として生物製剤の有用性を検討したところ、関節炎、皮疹や倦怠感などの全身症状、ブドウ膜炎に対して、抗 IL-6 製剤よりも抗 TNF 製剤が有用である可能性が示唆された。抗 TNF 製剤には、TNF 受容体 Fab 部と結合することで TNF 結合を遮断する ETA と、TNF に対するモノクローナル抗体である INF や ADA があるが、抗 TNF モノクローナル抗体である IFX や ADA の有効性が ETA と比べて高かったことは、本症の炎症病態における TNF の関与やその機序について、示唆を与えている可能性がある。

一方、IL-6 阻害薬である TCZ が 2 例において無効であったことは興味深い。これらの

2 例では、TCZ 導入後に臨床的な有効性が得られないばかりか、かえって MMP-3 が増加するなど、同じ関節炎疾患である JIA とは異なった反応を示した。抗 TNF 製剤と抗 IL-6 製剤の有効性の違いは、本症の病態を形成し持続させる leading cytokine の違いを反映したもののかもしれない。

また、抗 TNF 製剤は関節痛や関節腫脹に有効であったが、PIP 関節を中心とした指趾屈曲に対しては無効であった。そればかりか、生物製剤による治療を継続しても屈曲の程度が徐々に進行する傾向がみられた。典型例で関節エコーを行ったところ、ドップラーによる血流評価では関節滑膜には血流の増加は見られないものの (Grade 0~1)、腱鞘滑膜に著明な血流増加を認めた (Grade 3)。これらの所見は、昨年度の本研究班で池田らが報告した所見と一致しており、抗 TNF 製剤による治療の限界を示唆している。

ブドウ膜炎は、本症の生活予後を左右する重要な病態である。本邦のブラウ症候群/EOS 症例をまとめた Okafuji らの報告では (*Arthritis Rheum* 2009,60:242-50)、ブドウ膜炎は 20 例中 18 例 (90%) にみられ、そのうち 14 例 (78%) は 6 歳までに発症していた。今回の検討で、生物製剤導入前にブドウ膜炎を認めていた 4 例の発症年齢は、それぞれ 2 歳、2 歳、4 歳、5 歳であり、Blau/EOS 発症から平均 2.2 年後であった。一方、生物製剤導入時までにブドウ膜炎を未発症であった 2 例の導入時の年齢は、それぞれ 5 歳と 6 歳であり、ブドウ膜炎発症のリスクがある年齢域であった。しかしながら、これらの 2 例では、抗 TNF 製剤導入後、それぞれ 8.4 年、4.1 年が経過した最終観察の時点においてもブドウ膜炎の発症はみられなかった。活動性ブドウ膜炎に対して抗 TNF 製剤が有効であった 4 例の治療成績を考慮すると、抗 TNF 製剤がブドウ膜炎の発症を予防している可能性は否定できない。

一方、関節エコーを用いた検証からは、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。全体に診察による滑膜病変の検出精度に限界があることが示唆されるが、特に潜在性滑膜病変の頻度の高い PIP 関節、手関節、および足関節では関節エコー評価の意義が大きいと考えられた。

以上の結果から、治療フローチャートに關しては、現時点では病態や重傷度判定に基づいた特異的な治療は提唱されていない。しかしながら、(治療介入時の)病勢把握の指標としての有効性を検証するという観点から

も、我々は関節エコーによる定期的な評価の有用性に期待している。

恒常活性型変異体である NOD2 を背景とするブラウ症候群/EOS で肉芽腫がみられる、その分子機序を明らかに発現する遺伝子の網羅解析を行ったが、少なくとも今回の検討においては、NOD2 変異を来す患者において NF- κ B の活性化を示唆する遺伝子発現を確認することはできなかった。これまでの検討結果として、採取した患者由来末梢血 CD14 陽性細胞に NOD2 の発現を誘導することで、健常者との差異を検証する系を確立する必要があると思われ、実際にビタミン D3 の添加により、報告されている (Wang TT, et al. *J Biol Chem.* 2010) 抗菌ペプチドの発現増強を確認することができた。しかしながら、今回の検討では、病態解析に結びつけることができると思われる様な、少なくとも NF- κ B の活性化を示唆する発現遺伝子の変動は依然として確認できなかった。これは、ビタミン D3 添加によって、分離した細胞に NOD2 の発現を誘導することができたものの、発現した NOD2 からのシグナルを有効に伝えるための機構が、必ずしもこの細胞には備わっていない可能性を考えた。このため、今後の実験においては、分離した CD14 陽性細胞をマクロファージへと分化誘導することで、肉芽腫形成に関わると考えられる因子の検討を予定している。

E. 結論

NOD2 変異を同定できたブラウ症候群/EOS 本邦 32 症例における NOD2 遺伝子型を集計すると、疾患特異的 NOD2 変異の性質として、HEK293 細胞へと強制発現させた際にリガンド非依存性に NF- κ B の転写亢進がみられることが再確認された。しかしながら、患者から分離培養した末梢血を用いた検討では、NF- κ B の転写亢進を示唆する所見は同定できず、未だ病態解析に結びつけられる様な治験を得るには至っていない。

臨床面では、本症に対する生物製剤の有効性について検討した。稀少疾患であるために対象症例数に限界があり、retrospective な検討であることもあり、得られた成果の妥当性については限界がある。しかしながら、抗 TNF モノクローナル抗体製剤による治療は有効であり、特に関節炎、倦怠感や皮膚の結節性紅斑といった全身性の炎症病態、さらにはブドウ膜炎の改善を確認できた症例が見られた。

また、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、腱鞘滑膜炎よりも頻度は落ちるが、明らかな関節滑膜炎も認められた。さらに、患者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には限界があることが示唆された。本症でみられる炎症が、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は興味深い。ブラウ症候群/EOS の関節病変が無痛性であることは患児の QOL 上は良い点であるが、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っているという現状がある。個々の関節変形を防ぐため、より細やかな治療戦略の確立には、関節エコーによる病態評価が有用となり得ると考えた。

このように、本研究事業を通じて明らかになったことは少なくなく、本症が特徴的な臨床像を呈することから、医療関係者等の関心を高めることができれば、適切な医学的対応が可能となり、生活に支障を来す重度障害の予防ができると思われる。このため、疾患の紹介と情報提供を今後も継続して行う必要があると考えた。本年度 (平成 24 年度) より、厚生労働省難治性疾患克服研究事業として我々の研究に先行する形で解析が進められていた、いくつかの自己炎症性疾患を統合する形で、「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班 (研究代表者: 平家俊男・京都大学大学院医学研究科発達小児科学・教授) が組織されており、我々の研究班もこれに分担研究者として加わり、本研究事業での成果を引き継ぎ、継続していく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakamura Y, Kambe N. Linkage of bacterial colonization of skin and the urticaria-like rash of NLRP3-mediated auto-inflammatory syndromes through mast cell-derived TNF- α . *J Dermatol Sci.* (in press).

2. Kanazawa N, Tchernev G, Kambe N. Monogenic early-onset sarcoidosis is no longer a variant of “idiopathic” sarcoidosis. *J Am Acad Dermatol*. (in press).
3. Kunimoto K, Kimura A, Uede K, Aoyagi N, Furukawa F, Kanazawa N. A new infant case of Nakajo-Nishimura syndrome with a genetic mutation in the immunoproteasome subunit. *Dermatology*. (in press)
4. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Sanayama Y, Takahashi K, Yamagata M, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. Ultrasound can improve the accuracy of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis to predict methotrexate requirement. *Arthritis Rheum*. (in press)
5. Tanaka S, Ikeda K, Uchiyama K, Iwamoto T, Sanayama Y, Okubo A, Nakagomi D, Takahashi K, Yokota M, Suto A, Suzuki K, Nakajima H. [18F] FDG uptake in proximal muscles assessed by PET/CT reflects both global and local muscular inflammation and provides useful information in the management of patients with polymyositis/dermatomyositis. *Rheumatol (Oxford)*. (in press)
6. 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*. 2013; 33: 793-7.
7. Tanaka T, Takahashi K, Yamane M, Tomida S, Nakamura S, Oshima K, Niwa A, Nishikomori R, Kambe N, Hara H, Mitsuyama M, Morone N, Heuser JE, Yamamoto T, Watanabe A, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Asaka I, Heike T, Yamanaka S, Nakahata T, Saito MK. Induced pluripotent stem cells from CINCA syndrome patients as a model for dissecting somatic mosaicism and drug discovery. *Blood*. 2012; 120: 1299-308.
8. Nakamura Y, Franchi L, Kambe N, Meng G, Strober W, Núñez G. Critical role for mast cells in interleukin-1 β -driven skin inflammation associated with an activating mutation in the Nlrp3 protein. *Immunity*. 2012; 37: 85-95.
9. Yokota S, Nishikomori R, Takada H, Kikuchi M, Nozawa T, Kanetaka T, Kizawa T, Miyamae T, Mori M, Heike T, Hara T, Imagawa T. Guidance on the use of canakinumab in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome in Japan. *Mod Rheumatol*. 2012.
10. Shinar Y, Obici L, Aksentijevich I, Bennetts B, Austrup F, Ceccherini I, Costa JM, De Leener A, Gattorno M, Kania U, Kone-Paut I, Lezer S, Livneh A, Moix I, Nishikomori R, Ozen S, Phylactou L, Risom L, Rowczenio D, Sarkisian T, van Gijn ME, Witsch-Baumgartner M, Morris M, Hoffman HM, Touitou I; European Molecular Genetics Quality Network. Guidelines for the genetic diagnosis of hereditary recurrent fevers. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71: 599-605.
11. 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.
12. 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*. 2012; 92: 395-8.
13. 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.
14. 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*. 2012; 32: 3761-4.
15. 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.

16. Yoshimasu T, Ikeda T, Uede K, Kanazawa N, Furukawa F. Effects of sarpogrelate hydrochloride on skin ulcers and quality of life in the patients with systemic sclerosis. *J Dermatol.* 2012; 39: 536-540.
17. Ikeda T, Kanazawa N, Furukawa F. Hydroxychloroquine administration for Japanese lupus erythematosus in Wakayama: A pilot study. *J Dermatol.* 2012; 39: 531-535.
18. Kanazawa N. Rare hereditary auto-inflammatory disorders: towards an understanding of critical in vivo inflammatory pathways. *J Dermatol Sci.* 2012; 66: 183-189.
19. Kanazawa N. Nakajo-Nishimura syndrome: an autoinflammatory disorder showing pernio-like rashes and progressive partial lipodystrophy. *Allergol Int.* 2012; 61: 197-206.
20. 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.* 2012; 124: 227-238.
21. 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.
22. Li H, Kanazawa N, Kimura A, Kaminaka C, Yonei N, Yamamoto Y, Furukawa F. Severe ulceration with impaired induction of growth factors and cytokines in keratinocytes after trichloroacetic acid application on TRPV1-deficient mice. *Eur J Dermatol.* 2012; 22: 614-621.
23. 金澤伸雄. 肉芽腫のすべて サルコイドーシス. *Monthly Book Derma* デルマ. (印刷中).
24. 金澤伸雄. 日本で見出された自己炎症疾患: 中條-西村症候群. 日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌. (印刷中).
25. 神戸直智, 中村悠美. 連載「自己炎症症候群の多様性」 CAPSでみられるヒスタミン非依存性蕁麻疹. 炎症と免疫. 2012; 20: 183-8.
26. 神戸直智. 特集「蕁麻疹患者のQOL向上術」 蕁麻疹様皮疹を呈するクリオピリン関連周期性症候群の診断と管理. *Monthly Book Derma* デルマ. 2012; 194: 63-9.
27. 中野倫代, 神戸直智. 特集「皮膚免疫学ー免疫臓器としての意義と病態」 皮膚と自己炎症性機序による肉芽腫性疾患. 医学のあゆみ. 2012; 242: 791-4.
28. 神戸直智, 中村悠美. 特集「アナフィラキシーショック」 NLRP3インフラソームを介したマスト細胞の活性化. 臨床免疫・アレルギー科. 2012; 58: 560-4.
29. 神戸直智. 自己炎症症候群と皮膚疾患の関連ー治りにくい蕁麻疹(それと乾癬)についてー. 日皮会誌. 2012; 122: 3286-8.
30. 中川誠太郎, 神戸直智, 中村悠美. 自然免疫と蕁麻疹. 皮膚アレルギーフロンティア. 2013; 11: 13-6.
31. 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
32. 池田啓. 生物学的製剤使用下での画像診断の有用性. 最新医学. 2012; 67: 58-63.
33. 池田啓. リウマチ診療における超音波検査の有用性. 新医療. 2012; 39: 102-7.
34. 池田啓, 山形美絵子. 関節リウマチの超音波画像診断. 映像情報メディカル. 2012; 44: 934-7.
35. 池田啓. 関節リウマチ診療において構造的寛解の達成に画像的寛解は必要か?. 臨床リウマチ. 2012; 24: 314-9.
36. 池田啓. 関節エコーによる関節リウマチの疾患活動性モニタリング. リウマチ科. 2012; 48: 509-13.
37. 金澤伸雄. 皮膚ー紅斑など皮膚症状から診断へ. 小児内科. 2012; 44: 85-89.
38. 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ー西村症候群を引き起こす. 細胞工学. 2012; 31: 68-69.
39. 井田弘明, 有馬和彦, 金澤伸雄, 吉浦孝一郎. 中條ー西村症候群の原因遺伝子とプロテアソーム機能異常. リウマチ科. 2012; 47: 654-660.
40. 金澤伸雄. NOD2関連疾患. 炎症と免疫. 2012; 20: 517-522.

41. 井田弘明, 有馬和彦, 金澤伸雄, 吉浦孝一郎. プロテアソーム病. 炎症と免疫. 2012; 20: 609-614.

書籍

1. 金澤伸雄. Blau症候群と若年発症サルコイドーシス. 皮膚科臨床アセット14「肉芽腫性皮膚疾患 サルコイドーシス・他の肉芽腫」. 中山書店. 東京. (印刷中)
2. 金澤伸雄. 自己炎症疾患に対する抗IL-1療法. 皮膚科サブスペシャリティーシリーズ第7巻「1冊でわかる最新皮膚科治療」. 文光堂. 東京. (印刷中)
3. 金澤伸雄. Blau 症候群. サルコイドーシス Q&A 集. 厚生労働省びまん性肺疾患に関する調査研究班編. (印刷中)
4. 神戸直智. II各論 A自己炎症性疾患 7. Blau症候群/若年発症サルコイドーシス. 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. 2012; p86-9.
5. 神戸直智. III症例 Blau症候群/若年発症サルコイドーシス. 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. 2012; 207-9.
6. 池田 啓. EULARリウマチ性疾患超音波検査テキスト (大野滋監訳). メディカルサイエンスインターナショナル. 2012; 第1-5, 22, 26章.
7. 金澤伸雄. 壊疽性膿皮症は自己炎症疾患か?. WHAT'S NEW in 皮膚科学 2012-2013. メディカルレビュー社. 東京. 2012; p34-5.
8. 金澤伸雄. ピアス皮膚炎・肉芽腫とは?. 女性の皮膚トラブルFAQ. 診断と治療社. 東京. 2012; p218-23.
9. 金澤伸雄. Blau症候群. 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 3「サルコイドーシス (改訂第2版)」長井苑子編. 最新医学社. 大阪. 2012; p210-8.
10. 金澤伸雄. [誤診: アトピー性皮膚炎] 3. 本当は「Early-onset sarcoidosis」. 皮膚科フォトクリニックシリーズ「誤診されている皮膚疾患」. メディカルレビュー社. 東京. 2013; p48-51.

2. 学会発表

国際学会

1. Ikeda K, Nakagomi D, Sanayama Y, Yamagata M, Okubo A, Iwamoto T, Kawashima H, Takahashi K, Nakajima H. Time-integrated synovitis activity assessed by power Doppler ultrasound significantly correlates with radiographic progression in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate alone but not in those treated with TNF antagonists. (2012 American College of Rheumatology Annual Meeting (Nov 11, 2012, Washington DC, USA))
2. Nakagomi D, Ikeda K, Okubo A, Iwamoto T, Sanayama Y, Takatori H, Suzuki K, Takabayashi K, Nakajima H. Ultrasonographic assessment of synovitis improves the accuracy of 2010 American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis to predict development of a methotrexate-requiring disease. (2012 European League Against Rheumatism Congress. June 8, 2012, Berlin, Germany)

国内学会

1. 神戸直智 (2012) シンポジウム 1「臨床から見た自己炎症症候群」 皮膚症状から見た自己炎症症候群 (第 22 回日本小児リウマチ学会総会・学術大会, 10 月 5-7 日, 名古屋市)
2. 神戸直智 (2013) 暫定診療フローチャートの説明「ブラウ病・若年発症サルコイドーシス (Blau/EOS)」(厚生労働省難治性疾患克服研究事業「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立」班平成 24 年度班会議, 2 月 1 日, 東京)
3. 中澤 裕美子, 澤 新一郎, 河合 利尚, 西小森 隆太, 小野寺 雅史. 周期性発熱を認めなかったクリオリピン関連周期性発熱症候群 (第 115 回日本小児科学会, 4 月 20-22 日, 2012, 福岡市)
4. 井澤 和司, 土方 敦司, 西小森 隆太, 小原 収, 斎藤 潤, 吉岡 耕平, 堀 雅之, 日衛嶋 栄太郎, 中川 権史, 小田 紘嗣, 阿部 純也, 河合 朋樹, 八角 高裕, 中畑 龍俊, 平家 俊男, 武井 修治, 河合 利尚. NLRP3 体細胞モザイクを認めた Muckle-Wells 症候群の 2 例 (第 115 回日

- 本小児科学会, 4月20-22日, 2012, 福岡市)
5. 西小森隆太. わかりにくい免疫疾患をわかりやすく 自己炎症疾患を疑ったときに考えること 鑑別診断のポイントを中心にして (第49回日本小児アレルギー学会, 9月15-16日, 2012, 大阪市)
 6. 吉岡耕平, 西小森隆太, 日衛嶋栄太郎, 阿部純也, 酒井秀政, 高岡優貴, 井澤和司, 河合朋樹, 八角高裕, 平家俊男. 高IgD症候群に対してアナキンラを使用した一例 (第40回日本臨床免疫学会, 9月27-28日, 2012, 東京)
 7. 西小森隆太, 井澤和司, 河合朋樹, 八角高裕, 平家俊男. 感染症, 免疫不全・免疫異常症 Cryopyrin-associated periodic syndrome の治療 本邦における canakinumab 臨床試験及びアナキンラ疫学調査について (第40回日本臨床免疫学会, 9月27-28日, 2012, 東京)
 8. 武井修治, 山遠剛, 久保田知洋, 山崎雄一, 池田 啓, 神戸直智. EOS/Blau症候群における関節病態の臨床解析 (第5回自己炎症疾患研究会. 2012年7月6日, 福岡市)
 9. 赤池治美, 久保田知洋, 山崎雄一, 山遠剛, 野中由希子, 根路銘安仁, 嶽崎智子, 今中啓之, 池田 啓, 神戸直智. (第22回日本小児リウマチ学会. 2012年10月5-7日, 名古屋市)
 10. 池田 啓. 関節エコーを用いた関節リウマチ診療の最適化. 第45回九州リウマチ学会モーニングレクチャー (2013年3月10日, 那覇市)
 11. 池田 啓. リウマチ診療における超音波検査の有用性. 第48回日本超音波医学会中国地方会学術集会ランチョンセミナー (2012年9月8日, 広島市)
 12. 池田 啓. 関節リウマチ診療における超音波検査の展望. 第23回日本リウマチ学会関東支部学術集会シンポジウム1「RAの画像診断と治療」(2012年12月1日, 東京)
 13. 池田 啓. リウマチ診療における超音波検査. 第85回日本超音波医学会学術集会ハンズオンセッション (2012年5月27日, 東京)
 14. 牧田荘平, 鈴木快枝, 池田 啓, 細川淳一, 山形美絵子, 岩本太郎, 大久保綾子, 小林芳久, 中込大樹, 渡邊紀彦, 中島裕史. 全身性エリテマトーデスを合併した関節リウマチ3症例に対するアバタセプトの有効性の検討. 第56回日本リウマチ学会総会・学術集会 (2012年4月28日, 東京)
 15. 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)
 16. 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, イブニングセミナー「日本における関節エコーの可能性 -RAの早期診断・治療に向けて-」(2012年4月27日, 東京)
 17. 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)
 18. 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26日, 東京)
 19. 神戸直智. 若年発症サルコイドーシスの患者末梢血 CD14 陽性細胞を用いた病態解析の試み (厚生労働省難治性疾患克服研究事業「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立」班平成24年度班会議, 2013年2月1日, 東京)

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 1

ブラウ症候群/若年発症サルコイドーシスにおける
疾患別登録基準および診断フローチャートの作成

研究分担者 神戸 直智 千葉大学大学院医学研究院皮膚科学 准教授
金澤 伸雄 和歌山県立医科大学皮膚科 講師

研究要旨

ブラウ症候群および若年発症サルコイドーシスは、NOD2 遺伝子の変異を背景とする肉芽腫性疾患である。これまで本研究事業を通じて、日本での本症に罹患する患者数の実態調査を行うとともに、医療従事者に対して疾患概念の浸透を図ることを目的として活動してきた。

本年度（平成 24 年度）より、厚生労働省難治性疾患克服研究事業として我々の研究に先行する形で解析が進められていた、いくつかの自己炎症性疾患を統合する形で、「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班（研究代表者：平家俊男・京都大学大学院医学研究科発達小児科学・教授）が組織され、我々の研究班もこれに分担研究者として加わり、本研究事業での成果を引き継ぎ、継続していく予定である。本年度は、本研究事業で作成した診断基準を基として、疾患別登録基準および診断フローチャートの作成を行った。

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

研究協力者

平家 俊男・京都大学大学院医学研究科
発達小児科学 教授

八角 高裕・京都大学大学院医学研究科
発達小児科学 助教

念の浸透を図るとともに、集積された情報を有効に活用するためのシステム作りが求められている。

本年度（平成 24 年度）より、厚生労働省難治性疾患克服研究事業として我々の研究に先行する形で解析が進められていた、いくつかの自己炎症性疾患を統合する形で、「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班（研究代表者：平家俊男・京都大学大学院医学研究科発達小児科学・教授）が組織され、我々の研究班もこれに分担研究者として加わり、本研究事業での成果を引き継ぎ、継続していく予定である。本年度は、本研究事業で作成した診断基準を基として、疾患別登録基準および診断フローチャートの作成を行った。

A. 研究目的

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

B. 研究方法

疾患別登録基準の作成

本疾患は、家族歴の有無にかかわらず、4歳以前に発症し、皮膚、関節、眼を主として冒し、組織学的に肉芽腫を呈するという明確な特徴を有する。

表1 Eurofever の登録基準

登録基準	1. 17歳未満発症のNOD2 遺伝子変異を伴う炎症性疾患
	2. 17歳未満発症で、組織学的に非乾酪性類上皮細胞/巨細胞性肉芽腫が証明された炎症性疾患
	3. 疾患PIによるデータレビューと、必要に応じて受け持ち医との協議により適当と認められた症例
	4. 以下の疾患を除外すること
	—感染症（染色検査・培養検査・PCR） —免疫不全症（NBT・免疫グロブリン・リンパ球サブセット・ワクチン反応が正常であること） —クローン病 —全身性肉芽腫性血管炎 —原発性胆汁性肝硬変
到達目標	主要到達目標： ・ 小児サルコイドーシスの臨床像の把握と臨床的/生物学的病型分類の確立
	副次到達目標： ・ ブラウ病並びに小児期発症サルコイドーシス全般の予後に関するデータの収集 ・ 疾患活動性の指標となる臨床マーカーの確立 ・ ブラウ病並びに小児期発症サルコイドーシスに対する有効治療法のデータ蓄積 ・ 遺伝子情報入手可能な患者に関して遺伝子型と臨床像の関連性の評価

「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立に関する研究班」では、欧州で先行する患者登録システムである

Eurofever と整合性のある形で患者登録システムの構築が進められていることから、疾患別登録基準の作成に際しても、Eurofeverでの登録基準（表1）と、これまでの我々の3年間の本事業で作成した診断基準との摺り合わせを行った。

診断フローチャートの作成

これまでの我々の3年間の本事業で収集した患者情報を基に、これを包括する形で作成した診断基準を活かして、診断フローチャートを作成した。

（倫理への配慮）

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

また、症例の登録に際して、文部科学省および厚生労働省による「疫学研究に関する倫理指針」に従い、千葉大学倫理審査の承認を受けている（受付番号1150）。

C. 研究結果

疾患別登録基準の作成

本研究事業で作成した診断基準（別表1）を基にして、表2の様な患者登録のための基準案を作成した。

【診断フローチャート】

皮膚症状、関節症状、眼症状が3主徴である。→ 症状の確認（疑い例）

1) 皮膚症状（初発症状となることが多い。ステロイド外用に対する反応性は乏しい。ときに数ヶ月の単位で自然寛解と増悪を繰り返す）

- 充実性の丘疹。痒みなどの自覚症状は殆ど無い。ときに潮紅し、あるいは乾燥する。

- 結節性紅斑。

2) 関節症状（レントゲン検査では骨破壊は認めない。腫脹による運動制限のため、痛みは伴わず、他動は制限されない。ただし、進行例では関節の変形や脱臼、拘縮を来す。）

- 関節背面が無痛性に囊腫状に腫脹する。

- 手指、足趾がソーセージ様に腫脹する。

表2 本邦での登録基準

登録基準	<p>1-3 の何れか該当し、4 の疾患を除外出来た症例</p> <p>1. NOD2 遺伝子変異を伴う炎症性疾患</p> <p>2. 主要症状としての3主徴（皮膚症状、関節症状、眼症状）を認め、以下の2項目のいずれかを満たす症例</p> <p>a) 組織学的に肉芽腫を認める</p> <p>b) BHL を認めない</p> <p>3.3 主徴（皮膚症状、関節症状、眼症状）のいずれかを認め、以下の項目を1つ以上満たす症例</p> <p>a) 関節背面に特徴的な囊腫状腫脹を認める</p> <p>b) 家族歴を認める</p> <p>c) 4歳以前の発症である</p> <p>4. 除外疾患</p> <ul style="list-style-type: none"> - 感染症（染色検査・培養検査・PCR） - 免疫不全症（NBT・免疫グロブリン・リンパ球サブセット・ワクチン反応が正常であること - クローン病 - 全身性肉芽腫性血管炎 - 原発性胆汁性肝硬変
到達目標	<p>主要到達目標：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 小児サルコイドーシスの臨床像の把握と臨床的/生物学的病型分類の確立 <p>副次到達目標：</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ ブラウ病並びに小児期発症サルコイドーシス全般の予後に関するデータの収集 ・ 疾患活動性の指標となる臨床マーカーの確立 ・ ブラウ病並びに小児期発症サルコイドーシスに対する有効治療法のデータ蓄積 ・ 遺伝子情報入手可能な患者に関して遺伝子型と臨床像の関連性の評価

3) 眼症状（進行例では、失明する。他の臨床症状に遅れて出現する。）

- ブドウ膜炎。
- 虹彩後癒着、結膜炎、網膜炎、視神経萎縮など病変は全眼球性に及ぶ。

→ 上記の1), 2), 3) の小項目にあげた臨床症状の少なくとも1つを3項目共に認めるものの、遺伝子検査や病理組織検査で所見がないもの、あるいは未検査のものを「臨床的診断例」とする。なお、その際には診断の参考項目も参照する。

【診断の参考項目】

成人のサルコイドーシスに特徴的な両側肺門部リンパ節主徴は原則として認めない（ただし、肺病変の存在を否定するものではない）。

多くの症例では、4歳以前に何らかの臨床症状が認められる。

BCG 接種が臨床症状出現の契機となることがある。

高熱や弛張熱を認めることがある。

眼症状の出現までには時間がかかることから、3主徴が揃うまで漫然と経過をみるのではなく、視力予後の改善のためには皮膚症状（家族歴を認める場合）・関節症状が出現した段階（家族歴を認めない場合）で、組織診断（確定例）あるいは遺伝子診断（組織学的診断例）を考慮することが望ましい。

D. 考察

なお、治療フローチャートに関しては、現時点では、病態や重傷度判定に基づいた特異的な治療は提唱されていない。

- サリドマイド(in vitro で確認されるNF-κB 転写活性亢進をターゲットとして)
- 生物製剤による抗 TNF α 治療が、症例報告レベルでは試みられている。
- ステロイド内服が、眼症状の改善に用いられている。

以上の状況を踏まえて、(治療介入時の)病勢把握の指標としての有効性を検証するため、関節エコーによる評価の検討を進めている。

E. 結論

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

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kanazawa N, Tchernev G, Kambe N (2013) Monogenic early-onset sarcoidosis is no longer a variant of “idiopathic” sarcoidosis. *J Am Acad Dermatol.* (in press)
2. 中野倫代, 神戸直智 (2012) 特集「皮膚免疫学 —免疫臓器としての意義と病態」 皮膚と自己炎症性機序による肉芽腫性疾患. 医学のあゆみ. 242: 791-4.

2. 学会発表

国内学会

20. 神戸直智 (2012) シンポジウム 1「臨床から見た自己炎症症候群」 皮膚症状から見た自己炎症症候群 (第22回日本小児リウマチ学会総会・学術大会, 10月5-7日, 名古屋市)
21. 神戸直智 (2013) 暫定診療フローチャートの説明「ブラウ病・若年発症サルコイドーシス (Blau/EOS)」(厚生労働省難治性疾患克服研究事業「自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立」班平成24年度班会議, 2月1日, 東京)

H. 知的所有権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

別表1 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) の診断基準 (暫定版)

- 本症は、NOD2 遺伝子の変異を背景として全身に肉芽種性病変を来す疾患である。
 - a) NOD2 遺伝子に変異を認める。多くは NOD2 遺伝子の exon 3 (NOD 領域) に変異を認め、*in vitro* において NF- κ B の自発的な転写亢進を導く機能獲得型の変異である。また、家族歴のある者は常染色体優性遺伝形式をとるが、家族歴のない孤発例も認められる(ただし、この場合、発端者となり常染色体優性遺伝形式で遺伝する)
 - b) 罹患部位の組織学的検査では、肉芽種を呈する。
- 下記の臨床症状のいずれかに加えて、a) を認めるものを「確定例」、b) を認めるものを「組織学的診断例」とする。
- 皮膚症状、関節症状、眼症状が 3 主徴である。
 - 1) 皮膚症状
 - 充実性の丘疹。痒みなどの自覚症状は殆ど無い。ときに潮紅し、あるいは乾燥する。
 - 結節性紅斑
(ステロイド外用に対する反応性は乏しい。ときに数ヶ月の単位で自然寛解と増悪を繰り返す)
 - 2) 関節症状
 - 関節背面が無痛性に嚢腫状に腫脹する。
 - 手指、足趾がソーセージ様に腫脹する。
(レントゲン検査では骨破壊は認めない。腫脹による運動制限のため、痛みは伴わず、他動は制限されない。ただし、進行例では関節の変形や脱臼、拘縮を来す。)
 - 3) 眼症状
 - ブドウ膜炎。
 - 虹彩後癒着、結膜炎、網膜炎、視神経萎縮など病変は全眼球性に及ぶ。
(進行例では、失明する)
- 上記の 1), 2), 3) の小項目にあげた臨床症状の少なくとも 1 つを 3 項目共に認めるものの、遺伝子検査や病理組織検査で所見がないもの、あるいは未検査のものを「臨床的診断例」とする。なお、その際には診断の参考項目も参照する。
- 診断の参考項目
 - 成人のサルコイドーシスに特徴的な両側肺門部リンパ節主徴は原則として認めない(ただし、肺病変の存在を否定するものではない)。
 - 多くの症例では、4 歳以前に何らかの臨床症状が認められる。BCG 接種が臨床症状出現の契機となることがある。
 - 高熱や弛張熱を認めることがある。
 - 眼症状の出現までには時間がかかることから、3 主徴が揃うまで漫然と経過をみるのではなく、視力予後の改善のためには皮膚症状・関節症状が出現した段階で、組織診断あるいは遺伝子診断を考慮することが望ましい。

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

若年発症サルコイドーシス/Blau 症候群は皮疹、関節炎、ブドウ膜炎を三主徴とする主として4歳以下で発症する自己炎症症候群の1つである。病因として NOD2 遺伝子異常との関連が明らかにされ、昨年度まで本邦での NOD2 変異のまとめを行った。

若年発症サルコイドーシス/Blau 症候群が疑われた 21 症例について NOD2 遺伝子検査を行い、本年度はさらに 2 症例 (p.Arg587Cys 1 例, p.Arg334Trp 1 例) 同定でき、我々の把握しているコホートは 32 症例となった。総計として、p.Arg334Trp 変異が最多で 12 症例, p.Arg587Cys 6 症例, p.Arg334Gln 4 症例, p.Glu383Gly 2 症例, 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 例ずつとなった。

今回、新規変異は同定されず、現時点ではいずれの変異も *in vitro* での変異 NOD2 による NF- κ B 活性化が認められ、診断に有用であることが確認された。症例で観察されたこの事象は、病態を考える上でも今後重要な知見となりうると推察された。

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

井澤 和司・京都大学大学院医学研究科 医員

B. 研究方法

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

(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。

A. 研究目的

若年発症サルコイドーシス/Blau 症候群は皮疹、関節炎、ブドウ膜炎を三主徴とする主として4歳以下で発症する自己炎症疾患の1つである。近年、病因として NOD2 遺伝子異常との関連が明らかにされた。分担研究者は若年発症サルコイドーシス/Blau 症候群における 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 21 症例の遺伝子解析を行い、本邦における若年発症サルコイドーシス/Blau 症候群の遺伝的背景、その病因としての関連をアップデートした。