

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

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

ヘム・オキシゲナーゼ (HO)-1欠損症 6 例の臨床像と炎症病態

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** HO-1欠損症は1999年、我々により世界で第一例目が報告された。しかし、本邦での報告はこの症例のみであり、続報はない。他の5例も全て我々が遺伝子解析をしたインドの症例であるが、この5例の遺伝子変異はすべて同一のホモ変異であり、founder effect の存在が示唆される。HO-1欠損症においては、種々の酸化ストレスに対する細胞ならびに臓器の抵抗性が低下、感受性臓器の機能障害が特徴的に認められる。さらに、マクロファージ機能の低下や細胞死は、抗炎症機構の低下を惹起し、血管内皮細胞の機能障害は凝固・線溶系の異常をもたらす。その結果、全身炎症、臓器傷害、凝固系異常など、血管炎・炎症性疾患類似の病態を呈し、自己炎症性疾患やsJIAとの鑑別が重要となる。これまでに経験した6例の臨床像・炎症病態の解析から、その最も大きな特徴は、細胞保護機構の傷害とそれに続発するマクロファージ機能障害、血管内皮機能障害であることが推察された。HO-1欠損症は、免疫不全症でも自己免疫疾患でもなく、また自己炎症性疾患にも分類されない、新規に分類される炎症性疾患であると考えられる。

A. 研究目的

赤血球の崩壊により血中に遊離するヘモグロビン (Hb)、およびその重要な構成成分であるヘムは極めて細胞毒性の強い蛋白である。したがって、生体内には恒常的に産生されるヘムを速やかに代謝し無害なものとするための巧妙なしくみが存在している。血中の遊離 Hb はハプトグロビン (Hp) と結合し、この複合体が貪食細胞表面に存在する受容体に結合、細胞内に取り込まれる。取り込まれた Hb・Hp 複合体から遊離したヘムは分解酵素である HO によりビリベルジン、一酸化炭素 (CO) ならびに遊離鉄分子となる。ビリベルジンはビリベルジン還元酵素により還元されてビリルビンとなる。遊離鉄はフ

ェリチン産生を誘導、再利用サイクルに入る。CO はガス状分子として多様な生理活性を発揮するとされている。誘導酵素である HO-1 はヘム代謝の鍵となる酵素として、細胞毒であるヘムを直接分解することにより細胞傷害を防いでいると考えられる。このような HO-1 の特性から、HO-1 が遺伝的に欠損する場合にはヘム代謝障害によるヘムの蓄積、鉄代謝異常、ビリルビン生合成の障害、貪食細胞の細胞傷害が惹起されることが予想される。しかし、HO-1 欠損症患者に実際に起こったことはこのような特定の細胞に限定した異常ではなく、広範な生体防御機構の機能異常と遷延性炎症、多臓器障害を伴うものであった。そしてこの事実は、HO-1 が一次的

なヘム代謝機能にとどまらない、多様な生理活性を有する酵素であることを示している。

我々が最初に経験した患児は2才頃より発熱、関節痛、皮膚紅斑などの多様な炎症症状が出現し、これらの症状が寛解、増悪を繰り返しながら遷延した。検査所見では、CRP、LDH、フィブリノゲンの高値が持続、さらにTAT、PIC、APTTなど凝固・線溶系の指標が著しい高値を示した。蛋白尿、貧血、血小板増加、白血球増加も持続し、末梢血液像では赤血球形態の異常が観察された。鼻根部の平坦化、眼瞼のリンパ浮腫などの特徴的な顔貌を示し、これらの所見は経過を経るにつれ、増強した。また、前述した臨床検査所見の著明な異常は多少の軽快・増悪をくり返しながら患児が死亡する6才まで4年以上にわたり持続した。

このような特異な臨床像が、全てHO-1欠損症の共通の特徴であるのか、あるいはHO-1欠損症に加えて惹起された患児固有の病態であるのかについては長らく不明であった。しかし、ここ数年海外からの解析依頼症例のデータが集積し、最初の症例で観察された事項の多くがHO-1欠損症に共通の所見

であることが明らかにされてきた。本研究では、計6例の患者で観察された検査所見、臨床像をまとめ、この疾患を新たな炎症性疾患のカテゴリーに加えることを提起したい。

## B. 研究方法

対象：筆者らが最初に報告し診断が確定しているHO-1欠損症1例、ならびに遷延する発熱、高度の炎症所見、貧血、フェリチン高値などからHO-1欠損症が疑われたインドの5症例の計6症例。

遺伝子検索：これらの症例について、HO-1遺伝子解析を施行した。

臨床像比較：さらに、臨床症状、検査所見、画像データなど、得られる臨床データを比較し検討した。

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。HO-1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

図1：HO-1欠損症の臨床像

所見	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6
性別	男性	女性	男性	男性	女性	男性
発症・診断	2 yr/5 yr	15 yr/16 yr	6 m/2 yr	10 yr/10 yr	7 yr/9 yr	1 yr/1 yr
死亡	6 yr	16 yr	3 yr	alive	alive	2 yr
発熱	+	+	+	+	+	+
関節痛	+	-	-	-	-	+
溶血性貧血	+++	++	++	++	++	++
黄疸	-	-	-	-	-	-
血尿・蛋白尿	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
無脾症	+	+	+	+	+	+
前頭部突出	+	+	+	+	+	+
高血圧	+	+	+	+	+	-
頭蓋内出血	+	+	+	-	-	-
発育遅延	+	-	+	+	+	-

### 1 ; HO-1欠損症の臨床的特徴 (図1)

我々が最初に報告した症例は2歳頃の発症であったが、その後のインドからの5症例は様々な年齢に分布していた。最年長は15歳の発症であり、それ以前は一見健康な状態を維持していたとされる。共通する臨床症状は遷延する発熱、溶血性貧血、血尿・蛋白尿、高血圧などであり、全症例で認められた。さらに、診断後の検索で、全ての症例で無脾症あるいは著しい脾低形成が確認されている。6例の内4例が死亡、その多くで頭蓋内出血の合併が認められる。その他の特徴としては、前頭部の突出、発育遅延などが高頻度で認められる。最初の症例で認められたような、関節症状の頻度は高くなかった。著明な溶血性貧血を認めるが、黄疸を示した症例は皆無であった。

### 2 ; HO-1 遺伝子変異 (図2)

我々の報告した第一例は両アレルにそれぞれ異なった変異を認める、HO-1遺伝子の複合ヘテロ接合体であった。一方、その後インドから続いて検索依頼のあった5例は、全て同一の変異のホモ接合体であった。5例の

内1例は別施設からのものである。いずれの症例においても家族歴は認めず、近親婚は否定的であり、さらに異なる患者相互に血縁関係はなかった。したがって、インドにおいてはこの変異 (R44X) が founder effectを発揮していることが示唆された。

### 3 ; 臨床検査所見の特徴 (図2)

強い炎症所見 (CRP高値、フェリチン高値) が特徴的であった。凝固系の検索がされている症例は少なかったが、定量されていた2例ではいずれもFDP-DDの上昇を認めた。LDHも著しい高値を示し、AST/ALT はAST優位の増加を示した。著しい溶血性貧血があるにも関わらず、ビリルビンは低値～正常値を保っていた。血管内皮傷害、凝固・線溶系の障害があるにも関わらず、血小板は著しい増加を示した。

### 4 ; 血清サイトカイン

2例でのみ、血清サイトカイン定量が可能であった。血球貪食症候群を思わせる強い炎症所見、臓器傷害、特に血管内皮傷害の合併が示唆されたが、血清サイトカインは限定的

図2 : HO-1 遺伝子変異と検査所見

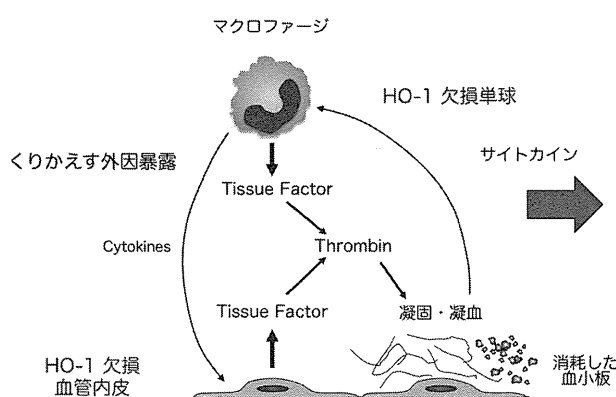
所見	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6
HO-1 遺伝子変異	exon 2; del exon 3; 2bp del	R44X (homo)	R44X (homo)	R44X (homo)	R44X (homo)	R44X (homo)
父親	exon 3; 2bp del	not done	not done	R44X/wild	R44X/wild	R44X/wild
母親	exon 2; del	not done	not done	R44X/wild	R44X/wild	R44X/wild
CRP (mg/dl)	6.7	30.8	5.3	正常	24.0	4.8
FDP-DD (μg/ml)	87.9	> 8	未検	正常	未検	未検
血小板 (x10 <sup>4</sup> /μl)	226	137	109	117	100	102
フェリチン (ng/ml)	3,150	4,912	15,530	15,358	2,500	> 2,000
LDH (IU/L)	15,030	9,462	12,858	16,000	4,000	21,400
AST (IU/L)	448	982	1,082	689	300	660
ALT (IU/L)	74	149	283	68	80	131
ビリルビン (mg/dl)	0.2	0.64	1.2	0.3	0.4	< 0.1
直接クームス試験	-	+	+	+	+	-

な増加に留まった。

#### D. 考察

これまでHO-1欠損症と直接関連した所見か、特定の症例にのみ観察される所見か判定不能であった多くの所見が、本疾患に特有かつ共通のものであることが明らかにされた。これらの特徴の多くは、HO-1欠損に由来するマクロファージ・血管内皮機能障害と密接に関連することが示唆された（図3）。

図3：HO-1欠損によるMφと血管内皮機能障害



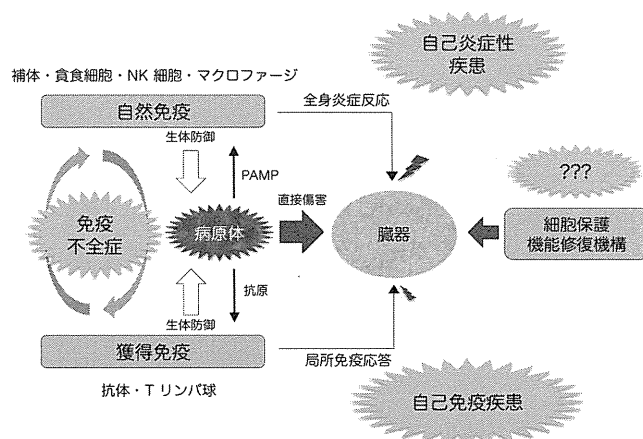
HO-1欠損症は一義的にはヘム代謝に関わる酵素欠損症に過ぎないが、強い炎症、臓器傷害の存在により、多くの自己免疫疾患、自己炎症疾患が鑑別診断の対象となることが予想される。わが国においてまだ一例のみの報告であることを考慮すると、この疾患を広く炎症性疾患の一カテゴリーと理解して、原因不明の炎症性疾患の鑑別診断対象とすることが必要ではないかと考える（図4）。

#### E. 結論

HO-1欠損症は未だに報告例の極めて少ないまれな疾患と考えられる。しかしその臨床像は、よりありふれた自己免疫疾患や自己炎症性疾患と類似した部分もあり、これらの疾患の鑑別対象として認識する必要がある。より詳細な病態解明と、治療戦略の確立のため

には多くの症例報告の蓄積が望まれる。

図4：生体防御機構と炎症病態



#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Wada T et al. Sustained elevation of serum interleukin-18 and its association with hemophagocytic lymphohistiocytosis in XIAP deficiency. *Cytokine* 2013; 65: 74-78.
- 2) Ishikawa S et al. Soluble ST2 as a marker of disease activity in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Cytokine* 2013; 62: 272-7.
- 3) Shimizu M et al. Distinct cytokine profile in juvenile systemic lupus erythematosus-associated macrophage activation syndrome. *Clin Immunol* 2013; 146: 73-6.
- 4) Shimizu M et al. Distinct subsets of patients with systemic juvenile idiopathic arthritis based on their cytokine profiles. *Cytokine* 2013; 61: 845-8.
- 5) Yachie A Allergic and immunological disorders; In Tsukahara H eds "Oxidative stress in applied basic research and clinical practice - Pediatric disorders -" from Springer, New York. In press.

## 2. 学会発表

1. 清水正樹、中岸保夫、井上なつみ、徳久優子、石川さやか、上野和之、横山忠史、谷内江昭宏。全身型若年性特発性関節炎におけるIL-6およびIL-18の臨床的意義 -サイトカインプロファイルによる病型分類の試み - 。第23回日本小児リウマチ学会総会・学術集会。2013年10月11日～13日（さいたま）
2. 石川さやか、清水正樹、杉本直俊、谷内江昭宏。全身型若年性特発性関節炎における soluble ST2 の臨床的有用性。第23回日本小児リウマチ学会総会・学術集会。2013年10月11日～13日（さいたま）

## 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（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

「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」

PAPA (Pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum and acne) 症候群

研究分担者 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 准教授 森尾友宏

研究協力者 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 大学院生 重野美湖

東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 大学院生 熊木恵里

かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部 部長 小原 収

研究要旨：

PAPA 症候群の診療ガイドラインを策定し、診断基準及び現行の治療法などを提示した。また国内の PAPA 患者における免疫担当細胞の機能を解析し、好中球におけるアポトーシス亢進を明らかにした。また国内外における PSTPIP1 遺伝子変異情報から野生型及び変異 PSTPIP1 タンパクをタンパク導入領域をつけた組換えタンパクの形で大腸菌に発現し、産生させる条件を明らかにした。

A. 研究目的

1. PAPA 症候群の診断ガイドラインを作成し、標準的な診断手法を確立する。
2. PAPA 症候群において嚢胞性ざ瘡、壊疽性膿皮症、化膿性無菌性関節炎及び合併症（肝脾腫や血球減少など）を呈する原因、病態を明らかにすることを最終的な目的とする。特に PSTPIP1 異常から上記の症状に至る病態を分子レベルで明らかにする。また様々な自己免疫疾患を合併することで知られる壊疽性膿皮症との異同を明確化する。

B. 研究方法

1. 診療ガイドラインの策定  
国内外の文献、Web 上の情報（Infefers サイトなど）及び、PIDJ などを通して相談を受けた PAPA 症候群情報を元に、臨床像、検査所見、及び PSTPIP1 遺伝子変異の情報を収集した。
2. 免疫担当細胞の機能測定  
免疫担当細胞特に貪食細胞に焦点を絞り、その機能を解析した。具体的には健常人及び患者末梢血より MonoPoly prep 及び negative selection 法を用いて好中球を分離し（Honda F, et al. Nat. Immunol. 2013）、PMA, LPS, fMLP, LPS+fMLP, Staph aureus, Staph. Aureus + opsonin, E. coli などで刺激を加えた。その後ルミノール

法を用いて化学発光法で活性産生能を RLU にて測定した。アポトーシスは Annexin VI/7AAD による染色で、Annexin V +, 7AAD-の早期アポトーシスと、両者が陽性の晩期アポトーシスの比率を FACS 法にて解析した。

3. 組換え型 PSTPIP1 タンパクの発現と精製

PSTPIP1 の全長は末梢血単核球から PCR にて増幅し、TA クローニングし、Sanger 法で遺伝子配列を確認の後、Hph-1 を hook up させる plasmid に導入した。in vitro mutagenesis 法を用いて PSTPIP1 遺伝子に変異を導入した。タンパク発現は大腸菌において ITPG にて誘導し、Niclel カラムで精製、Imidazol にて溶出した。得られた組換えタンパクの純度は SDS-PAGE, Coomassie Brilliant Blue 染色で確認した。

（倫理面への配慮）

本研究では実際の患者血液検体を使用し、また診断に当たって遺伝子解析も行う。また遺伝子組換え実験も計画している。そのため臨床研究や遺伝子解析に関する各種ガイドラインや指針に十分配慮した研究をおこなう。採血に当たっては最小限の量で対応することとし、健常人及び患者には十分な説明と同意の元に検討を行う。

## C. 研究結果

### 1. 診療ガイドラインの策定

日本における PAPA 症候群の解析結果及び国外からの総説、Infevers データなどを元に診療ガイドラインを策定した (代表者より別途提示)。

### 2. 免疫担当細胞の機能解析

2 名の PAPA 症候群患者、3 名の PAPA 疑い患者にて検討を行った。PAPA 症候群の既知遺伝子変異を有する患者では好中球機能検査では、各種刺激時の活性酸素産生亢進が認められた。また無刺激時において Annexin V 陽性細胞の増加が観察された。

### 3. 組換え型 PSTPIP1 タンパクの発現と精製

A230T (688G>A), E250Q (748G>C), E250K (748G>A), G258A(773 G>C) の 4 種類の construct を作成した。タンパクは不溶性分画に移行したため宿主大腸菌、培養温度、溶出条件、溶解液など各種の optimization をはかった。その結果培養 0.1 g/mL 程度の収量で回収することが可能になった。得られたタンパクは好中球に導入し、予備実験からは 24 時間程度安定に発現することが確認された。発現はまた Western blot にて確認した。

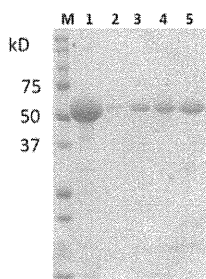


図 精製した組換え型 PSTPIP1 タンパク

1 は wild type

2-5 はそれぞれ E250K, G258A, E250Q, A230T

## D. 考察

PAPA 症候群は PSTPIP1 遺伝子変異によって起きる壊疽性膿皮症や無菌性関節炎、嚢腫性ざ瘡を主体とする疾患であるが、その真の病態は明らかになっていない。特に PSTPIP1 遺伝子変異から症状所見発現に至る過程は未知である。さらに壊疽性膿皮症では様々な自己免疫疾患を合併し、非典型例では病状が極めて類似することがある。壊疽性膿皮症においても

PSTPIP1 遺伝子異常が認められることが知られており、それが混乱を深めている。Infevers には 21 種類の PSTPIP1 遺伝子変異が登録されているが、それらと疾患との関連性は明らかではない。病態の解明と、変異と疾患の関連性の解析が急がれる。本研究では PAPA 症候群における免疫担当細胞機能や PSTPIP1 の機能を直接に検証しようとしており、その成果により明らかになってくる部分も多いと考えている。特に真に有効な治療法が欠如している現状において、その成果は治療法の開発にもつながるものと予想される。

## E. 結論

PAPA 症候群における貪食細胞の機能解析を行い、好中球における異常を明らかにした。また患者から同定された変異を有する PSTPIP1、その野生型を大腸菌にて発現させて primary cell や細胞株に導入できるタンパクとして精製した。診療に当たっての診断のフローチャートや、標準的治療法と思われるものの情報のとりまとめを行った。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

原著

1. Yamamoto A, **Morio T**, Kumaki E, Yamazaki H, Iwai H, Kubota T, Miyasaka N, Kohsaka H: A Case of Pyogenic Sterile Arthritis, Pyoderma Gangrenosum, and Acne (PAPA) Syndrome Accompanied by Nephrosclerosis, Splenomegaly and Intestinal Lesions. *J Genet Syndr Gene Ther.* 4 : 9 (eJournal), 2013.
2. Fukuda S, Nanki T, **Morio T**, Hasegawa H, Koike R, Miyasaka N. Recurrent mitral valve regurgitation with neutrophil infiltration in a patient with multiple aseptic abscesses. *Mod Rheumatol.* 2013 [Epub ahead of print]
3. Miyabe C, Miyabe Y, Miura NN, Takahashi K, Terashima Y, **Morio T**, Yamagata N, Ohno N,

Shudo K, Suzuki J-I, Isobe M, Matsuhima K, Tsuboi R, Miyasaka N, and Nanki T. Am80, a retinoic acid receptor agonist, ameliorates murine vasculitis through the suppression of neutrophil migration and activation.

*Arthritis Rheumatism.* **65** : 503-512, 2013.

4. Park TY, Kim SH, Shin YC, Lee NH, Lee RK, Shim JH, Glimcher LH, Mook-Jung I, Cheong E, Kim WK, Honda F, **Morio T**, Lim JS, Lee SK. Amelioration of neurodegenerative diseases by cell death-induced cytoplasmic delivery of humanin.

*J Control Release.* **166**:307-315, 2013.

## 総説

1. 森尾友宏:好中球過剰活性化制御機構と炎症 炎症と免疫 **21**:345-351, 2013.

## 2. 学会発表

1. 熊木恵里、重野美湖、水谷修紀、森尾友宏、PAPA 症候群・壊疽性膿皮における好中球の過剰反応、第 41 回日本臨床免疫学会、下関、2013 年 11 月 29 日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし



# 自己炎症疾患の PIDJ 登録患者の解析

研究分担者 野々山 恵章 (防衛医科大学校小児科学講座 教授)

## 研究要旨

免疫不全症データベース PIDJ 登録症例中の自己炎症疾患の疾患頻度を明らかにした。平成25年度までに PIDJ 登録2279例のうち、26.7%にあたる619症例の自己炎症疾患が疑い症例を含め登録されていた。平成25年度では登録患者が147例増加した。平成24年度では、49%が最終病名の記載があったが、平成25年度では63.3%が最終病名の記載があり、診断技術の向上により最終診断ができた症例の増加が考えられた。特に FMF の確定診断は20%から25%へと増加していた。小児から高齢者まで全年齢層の患者での登録があり、また全国の167施設からの登録がなされていた。PIDJ における自己炎症疾患患者登録は順調に進んでいると考えられた。

## A. 研究目的

自己炎症性疾患は、周期性発熱を主症状とし、体質性に炎症を伴う症候群である。稀少疾患であるため、その臨床症状、適切な治療法、予後等は未だ明らかになっていない。

本研究の目的は、わが国での自己炎症性疾患の症例集積により、その臨床症状、疾患頻度を明らかにし、病態の解明を行うことである。

## B. 研究方法

免疫不全症データベース PIDJ(Primary Immunodeficiency Database in Japan)は、わが国における原発性免疫不全症の患者登録システムであり、厚生労働省の難治性疾患克服研究事業「原発性免疫不全症候群に関する調査研究」における調査研究班、かずさDNA研究所、理化学研究所 免疫・

アレルギー科学総合研究センターが協力し、2006年から運営されている。

原発性免疫不全症疑い症例を診察した主治医は PIDJ に患者を登録し、厚生省研究班会議施設へ相談することが出来る。班会議施設は臨床症状の検討及び FACS、遺伝子検査等の詳細な検査を理化学研究所やかずさ DNA 研究所と協力して行い、結果を主治医に報告するシステムが構築されている。

近年、国際免疫学会連合(International Union of Immunological Societies ;IUIS) において、自己炎症性疾患が原発性免疫不全症候群として分類されたことから、自己炎症性疾患を疑われた多くの症例が PIDJ に登録されている。

本研究では、Blau 症候群／若年性サルコイドーシス、Cryopyrin associated periodic syndrome (CAPS)、Chronic recurrent multifocal osteomyelitis(CRMO)、

家族性地中海熱(FMF)、メバロン酸キナーゼ欠損症(MKD)、PAPA 症候群、TRAPS、PFAPA 症候群、NALP12-associated periodic syndrome (NALP12)、Deficiency of IL-1 receptor antagonist (DIRA)、中條・西村症候群、周期性発熱症候群等の自己炎症性疾患を疑われて PIDJ に登録された症例及び、上記の疾患と診断された患者を対象とする。

主治医及び担当班会議施設が PIDJ 上に記載したデータを収集し、疾患頻度を明らかにする。登録症例の検体に対して免疫学的検査を行い、病態の解明を行う。

(倫理面への配慮)

データは匿名化して取り扱う。

### C. 研究結果

PIDJ 発足後6年間で、2279症例が登録され、そのうち619例が自己炎症性疾患を疑われて登録された。平成25年度では登録患者が147例増加した。平成24年度では、49%が最終病名の記載があったが、平成25年度では63.3%が最終病名の記載があり、診断技術の向上により最終診断ができた症例の増加が考えられた。特に FMF の診断は20%から25%へと増加していたがその他、CAPS, TRAPS, PFAPA, HIDS, BLU 症候群、早期発症型炎症性腸疾患/CROM、PAPA 症候群いずれも登録数が増えていた。一方周期性発熱症候群疑いは51%から37%に減少したより確定診断が進んできたことを示していると考えられた。

年令別に登録患者を解析すると、小児から高齢者まで全年齢層の患者での登録

があった。また全国の167施設からの登録がなされていた。

一方、PIDJ が元来は狭義の原発性免疫不全症例を対象として構築されたため、自己炎症性疾患の病態把握に必要と考えられる検査及び症状項目を、一部含んでいないことが判明した。具体的には、CRP、赤血球沈降速度(ESR)、血清アミロイド A、プロカルシトニン、サイトカインプロファイルといった検査項目及び、熱型、発作誘因、皮膚所見、漿膜炎、眼窩周囲浮腫、髄膜炎、難聴、膝蓋骨の過形成、リンパ節浮腫、アフタ性口内炎、咽頭炎、ぶどう膜炎等の臨床症状項目が不足していた。そこで、自己炎症疾患独自のデータベースを作成し、現在試験運用中である。このデータベースは PIDJ からデータ移行可能であり、またヨーロッパのデータベースの項目を含みかつそれ以上の内容になっているため、EUROFEVER にも対応データベースである。

### D. 考察

PIDJ には多くの自己炎症性疾患が登録され、症例集積、病態解明の場として有用と考えられた。特に、この1年だけで147例の登録増加があった。また全年令での登録があり、内科医、小児科医など診療科を超えて登録していると考えられた。病院も全国から167施設が登録しており、全国的に広く利用されていることが判明した。

一方で、検査項目や症状等の記入欄が自己炎症性疾患に対応しておらず、データを取りまとめる上で障害となった。現在必須入力項目を増やすなど、自己炎症疾患に

特化したデータベースシステムの構築がほぼ完了しており、さらなる解析が可能になると考えられる。

## E. 結論

自己炎症性疾患の症例集積と病態解明のため、PIDJは有用である。記載項目を整備しつつわが国における症例集積を行う事で、自己炎症疾患の実態が把握でき、的確な診断、治療、診療レベルの向上、さらには病態解明、臨床研究の実施に貢献すると考えられた。

## F. 研究危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-Hammarström Q, van Zelm MC, Morio T, Imai K, Nonoyama S. Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin  $\kappa$ -deleting recombination excision circles. *J Allergy Clin Immunol.* 131:1437-1440, 2013.
- 2) Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang L, Kinoshita-Yamaguchi H, Takayama-Ito M, Lim CK, Inoue N, Mizuguchi M, Igarashi T, Saijo M. Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir resistant herpes simplex virus type 1. *J. Clin. Microbiol.* 51:356-359, 2013.
- 3) Kojima R, Fujiwara T, Matsuda A, Narita M, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K.

Factors Associated with Steroid Phobia in Caregivers of Children with Atopic Dermatitis. *Pediatr Dermatol.*, 30:29-35, 2013.

- 4) Kojima R, Matsuda A, Nomura I, Matsubara O, Nonoyama S, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Salivary Cortisol Response to Stress in Young Children with Atopic Dermatitis. *Pediatr Dermatol.* 30:17-22, 2013.
  - 5) Bousfiha A, Jeddane L, Ailal F, Al-Herz, Conley M.E., Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Fischer A, Franco J.L., Geha R.S., Hammarström L, Nonoyama S, Ochs H.D., Roifman C, Seger R, Tang M.L.K., Puck J.M., Chapel H, Notarangelo L.D., Casanova J.L. A Phenotypic Approach for IUIS PID Classification and Diagnosis: Guidelines for Clinicians at the Bedside. *J Clin Immunol.* 33:1078-1087, 2013.
  - 6) Kojima R, Ohno T, Iikura M, Niki T, Hirashima M, Iwaya K, Tsuda H, Nonoyama S, Matsuda A, Saito H, Matsumoto K, Nakae S. Galectin-9 enhances cytokine secretion, but suppresses survival and degranulation, in human mast cell line. *PLoS One.* 2013(in press)
  - 7) Horiuchi K, Imai K, Mitsui-Sekinaka K, Yeh ZW, Ochs HD, Durandy A, Nonoyama S. Analysis of somatic hypermutation in the IgM switch region in human B cells. *J Clin Allergy Immunol.* (in press)
- ### 2. 学会発表
- 1) Nonoyama S. Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin kappa deleting recombination excision circles. ICI 2013(International Congress of

Immunology). Milano, Italy.  
Aug.2013.

- 2) Nonoyama S. KRECS assay for detecting Bcell deficiencies and other Primary Immunodeficiencies. Jeffery Modell Centers Summit. Berlin, Germany. July 2013.
- 3) Nonoyama S. Primary immunodeficiency electronic record (Pier) for the PID patients. Invited speaker. International Primary Immunodeficiency Congress. Estoril, Portugal, Nov. 2013.

#### 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

平成 25 年度厚生労働省科学研究費補助金（研究事業）  
「自己炎症性疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立」班  
分担研究報告書

分担研究課題

自己炎症疾患と自己免疫疾患の連続性に関する研究  
—小児 SLE 患児血中の soluble TLRs と疾患活動性との関連—

研究分担者 武井 修治 鹿児島大学大学院保健学研究科

研究要旨

小児 SLE 13 例を対象に、血清中の soluble form の TLR2、TLR4、TLR7、TLR9 (sTLRs) を活動期および寛解期に測定し、対照群(線維筋痛症 FMS)5 例と比較した。

その結果、測定した sTLRs のうち、sTLR9 が SLE の活動期に増加しており (3,811 pg/ml)、寛解期 (1,339 pg/ml) や対照群 (1,144 pg/ml) と有意差を認めた (それぞれ  $p=0.025$ ,  $0.0185$ )。また、sTLR9 は血清中 C3 レベルと有意な負の相関を示した ( $R^2=0.189$ ,  $p=0.0299$ )。

この結果は、自然免疫系のセンサーである TLR9 が SLE 病態に関与することを示唆するが、その機能が SLE に対して制禦的か促進的かについては従来 of 報告通り不明である。また、細胞内受容体である TLR7/9 が soluble form として患児血清で検出され、更に sTLR9 が疾患活動性を反映して変化した機序についても、更なる検討が必要である。

研究協力者

久保田知洋、山遠 剛、山崎雄一、野中由希子 (鹿児島大学小児科)

A. 研究背景と目的

自己免疫疾患の発症や病態維持の機序の一つとして、自然免疫の関与が注目されている。全身性エリテマトーデス (SLE) は T/B 細胞を中心とした獲得免疫系の異常により疾患特異的な抗 Sm 抗体や抗 dsDNA 抗体などの自己抗体が産生され、その免疫複合体による血管炎が皮膚、腎、神経系などに

障害をもたらす全身性炎症性疾患であり、自己免疫疾患の代表と考えられてきた。しかしながら、自然免疫系の機序解明が進むにつれ、SLE の発症や病態の維持に、自然免疫系の構成要素がさまざまな形で関与しながら、SLE の病態を作り上げていることが明らかとなりつつある。

補体は自然免疫系の重要な構成要素であるが、先天性補体欠損症の多くが SLE 類似の病態を発症することが知られている。また、ウイルス感染により産生されるインターフェロン (IFN)  $\alpha$  は、自然免疫系におい

て多様な機能を発揮するが、SLEにおいても病態を反映して増加することが報告され、自然免疫系と自己免疫の関連の検討が進められた。

IFN $\alpha$ の主要な産生細胞は形質細胞様樹状細胞 plasmacytoid dendritic cells (pDCs) である。この pDCs は TLR-7 や TLR-9 を高発現しており、それぞれウイルスの一本鎖 RNA や DNA を認識して IFN $\alpha$  を産生する。一方、これら TLRs による自己と非自己の認識は獲得免疫系ほど厳密ではない。したがって、TRL-7/9 はウイルス由来の核酸に対するセンサーとしてだけでなく、自己の核酸に対するセンサーとして機能する。一方、SLE では、C1q 低下による免疫複合体のクリアランス障害、アポトーシス機能の低下、好中球ネトーシス産物である NETs の分解機能低下などが報告されており、死細胞からの過剰な自己 DNA や RNA からなる免疫複合体を排除できず、pDCs に取り込まれて TLR7 や TLR9 により認識されることで大量の IFN $\alpha$  が持続的に産生される可能性が指摘されている。

以上から、TLR7/9 は SLE の病態に重要な役割を果たしているものと思われる。一方、TLR7/9 は小胞体内腔に向けて発現する受容体であり、リゾゾームへ細胞内移動して細胞内へ取り込まれた PAMPs を認識するため、血清中の soluble form の TLRs (sTLRs) を検討した報告はなかった。一方、Yang らは悪性疾患や感染症患者の胸水中に sTLRs が増加していることを報告した (Chin Med J, 2010)。そこで我々は、小児 SLE 患児血清中の soluble TLRs が測定可能であるかを検討し、併せて疾患活動性やその指標となる補体、dsDNA 値との関連を

検討した。

## B. 研究方法

16歳未満で発症し、ACR基準を満たしたSLEを対象とした。また、対照疾患として免疫学的検査を含めて血液検査で異常を認めない線維筋痛症 FMS を選択した。

SLE では、採取・冷凍保存しておいた血清のうち、治療開始前の血清 (活動期血清) と、治療開始後に寛解した時期の血清 (寛解期血清) を用いた。また、対照とした FMS 患者では、初診時の血清を用いた。

sTLR の測定は、ELISA (コスモバイオ社) を用いて行い、sTRL2、sTLR4、sTLR7、sTLR9 を測定し、SLE の疾患活動性を、dsDNA、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> で評価した。

表 1 : Characteristics of Patients

対象 SLE	13 例	
女児	13/13	
発症年齢 (歳)	11.3±2.2	(7.9-14.7)
初診時 Data		
抗 dsDNA (IU/ml)	337±304	(40-1239)
C <sub>3</sub> (mg/dl)	36.5±16.3	(14-64)
C <sub>4</sub> (mg/dl)	4.8±2.1	(1.8-8.4)
初回評価時		
年齢 (歳)	12.5±2.7	(8.7-18.7)
罹病期間 (年)	1.2±1.7	(0-6.1)
抗 dsDNA (IU/ml)	240±330	(17-1239)
C <sub>3</sub> (mg/dl)	58.0±20.3	(17-90)
C <sub>4</sub> (mg/dl)	7.4±4.7	(1.9-20.4)
対照 (FMS)	5 例	
女児	4/5	
年齢	12.4±2.3	(8.9-14.7)

## C. 研究結果

### 1. 対象のプロファイル (表 1)

表 2 : SLE 患児の疾患活動性指標と sTLRs

	SLE		対象(FMS) <sup>c</sup>	P-value*	
	活動期 <sup>a</sup>	寛解時 <sup>b</sup>		a vs b	a vs c
	(治療前)	(治療中)			
	n=7	n=12	n=5		
疾患活動性指標					
dsDNA (IU/ml)	394±388	21.4±8.0	-	<0.001	-
C <sub>3</sub> (mg/dl)	44.2±15.3	83.7±11.0	-	<0.001	-
C <sub>4</sub> (mg/dl)	4.2±1.6	12.0±4.0	-	<0.001	-
sTLRs					
TLR2 (ng/ml)	8.6±6.3	3.1±1.4	9.9±5.7	ns	ns
TLR4 (ng/ml)	16.8±0.9	10.2±4.8	-	ns	-
TLR7 (ng/ml)	1.3±1.3	1.0±1.2	0.63±0.25	ns	ns
TLR9 (pg/ml)	3,811±3,957	1,339±896	1,144±402	0.025	0.0185

\*Mann-Whitney' U test

対象 SLE は 13 例で、全例女児であった。発症時の平均年齢は 11.3 歳であり、初診時には全例で dsDNA 抗体が高値で、C<sub>3</sub> および C<sub>4</sub> は低値であり、高い活動性を示していた。

sTLRs を初めて測定した時点での SLE 13 例の罹病期間は平均で 1.2 年(0~6.1 年)であり、13 例中 6 例は治療開始前の活動期と治療開始後の寛解期の 2 ポイントの血清で sTLRs を評価したが、1 例は活動期のみの血清で、6 例は寛解期のみの血清で測定を行った。これら SLE の初回測定時の年齢は平均で 12.5 歳であり、対照群の FMS 5 症例の平均年齢 12.4 歳と有意差を認めなかった。

## 2. sTLRs と疾患活動性

治療開始前の活動期群 7 例では、SLE の疾患活動性指標である抗 dsDNA 抗体は 394±388 IU/ml (平均±SD) と高値であり、

寛解期群 12 例の 21.4±8.0 IU/ml と有意差を認めた(p<0.001) (表 2)。また、活動期群の C<sub>3</sub> 値、C<sub>4</sub> 値はいずれも低値で、寛解期群と有意差を認めた(いずれも p<0.001)。

血清中の sTLR2、sTLR4 は、いずれも SLE の活動期群と寛解期群間で有意差を認めず、また対照疾患の FMS とも有意差を認めなかった(TLR4 は FMS で未測定)。また、sTLR7 は、活動期 SLE、寛解期 SLE、対照群(FMS)の順に低値となったが、有意差は認めなかった(図 1)。

一方、TLR9 は有意に活動期 SLE 血清で平均 3,811pg/ml と高値であり、寛解群(平均 1,339 pg/ml)や対照群(平均 1,144 pg/ml)と有意差を認めた(それぞれ p=0.025、p=0.0185)(図 1)。また、活動期(治療開始前)と寛解期の 2 ポイントで評価した SLE の 6 例では、sTLR9 値は全例で寛解期に低下していた(図 2)。

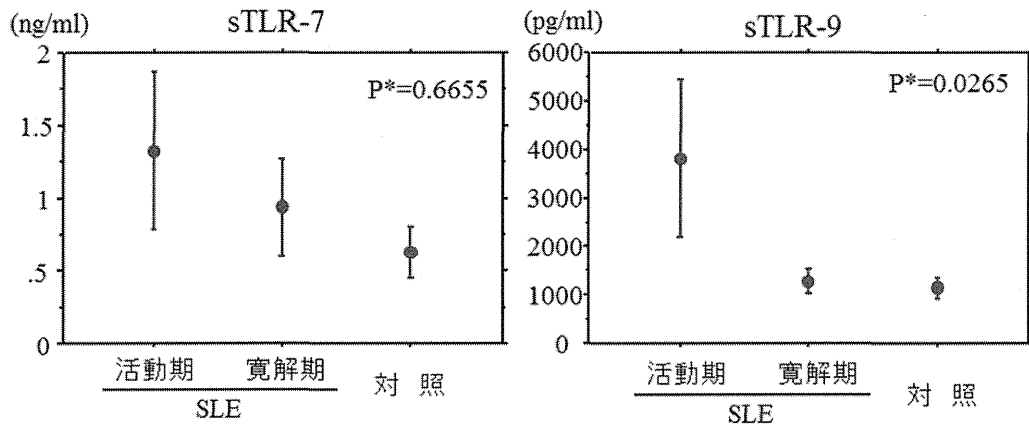


図1: SLEの疾患活動性とsTLR7及びsTLR9 \*Kruskal Wallis test

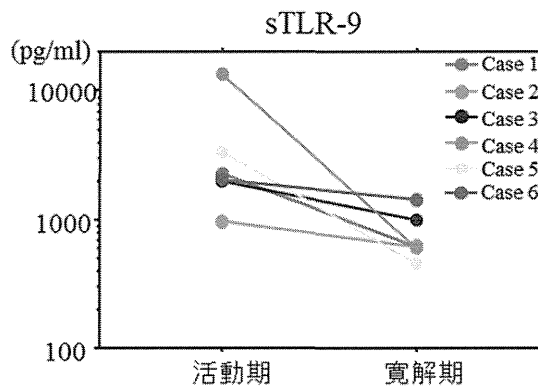


図2: 疾患活動性に伴うsTLR9の変化

### 3. SLE 疾患活動性指標と sTLR7/9 の関連

SLE の疾患活動性指標である dsDNA、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub> と sTLR7/9 の関連を検討した(図 3)。その結果、SLE 血清中の sTLR9 値は、C<sub>3</sub> 値との間に有意な負の相関を認めた ( $R^2=0.189$ ,  $p=0.0299$ )。また有意性はないものの、sTLRs は、C<sub>4</sub> とは負の相関傾向を認めた ( $R^2=0.138$ ,  $p=0.0671$ ) が、抗 dsDNA 抗体価とは有意な相関は見られなかった。

一方、sTLR7 は C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、dsDNA のいずれの指標とも有意な相関を認めなかった。

### D. 考察

以上の検討から、活動期の小児 SLE の血清中には sTLR9 が高レベルで検出され、寛

解期には低下することが判明した。またその sTLR9 値は C<sub>3</sub> 値と有意な相関関係を認めたものの、抗 dsDNA 抗体値とは相関しなかった。

13 種類ある TLRs のうち、TLR7 と TLR9 は SLE との関連を指摘する報告が多い。

特に SLE モデルマウスでの研究では、TLR7 を欠損させることで自己抗体の産生低下、腎病理像の改善、SLE の発症抑止などが報告され、TLR7 は SLE 病態に促進的に働くことが指摘され、ヒトにおいても TLR7 の阻害オリゴヌクレオチド投与によって SLE 患者由来の pDC の IFN $\alpha$  産生を抑制できることが報告されている。一方、TLR9 については、TLR9 欠損 SLE モデル



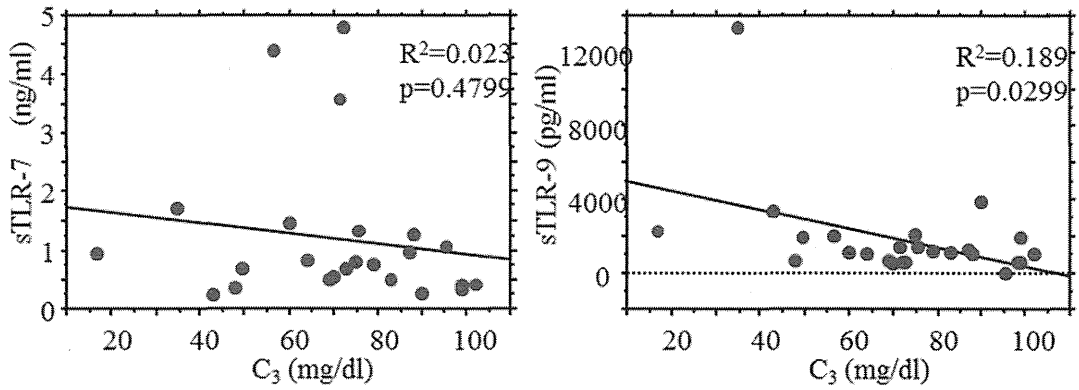


図3：sTLR-7およびsTLR-9と血清C<sub>3</sub>との相関

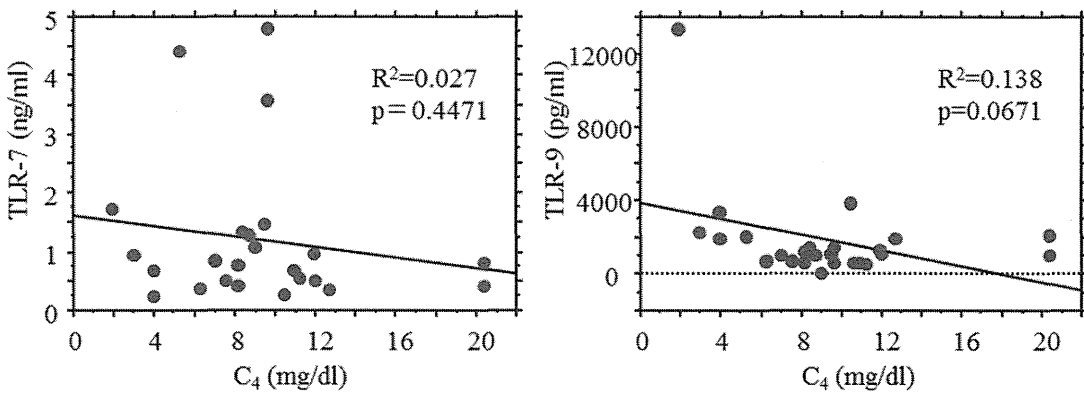


図4：sTLR-7およびsTLR-9と血清C<sub>4</sub>との相関

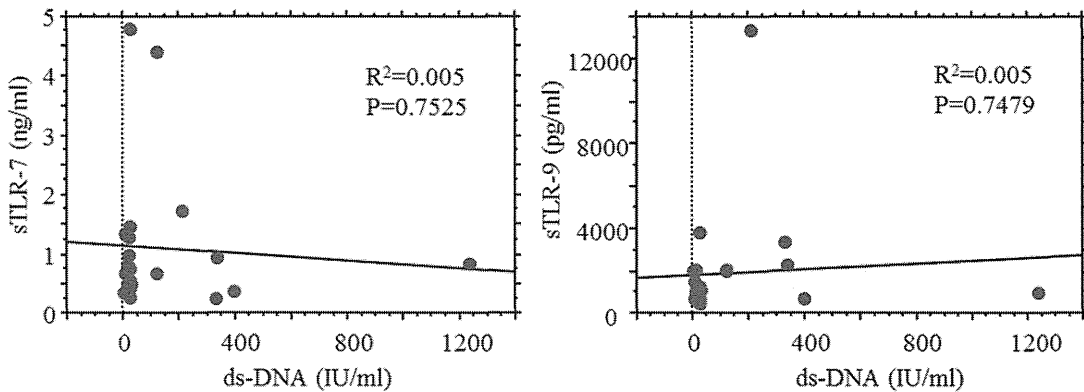


図5：sTLR-7およびsTLR-9とdsDNA抗体との相関

マウスでは SLE は重症化し死亡率も高いとする報告がある。また、TLR9 を介して活性化した pDC 細胞や B 細胞からは、IL-10 などの制御性サイトカイン産生が促進されたり、制御性 T 細胞の活性化を誘導するなど、TLR9 は SLE の病態に抑制的に

機能するとの報告がみられる。今回の検討で、小児 SLE 患者血清中の sTLR9 が活動期に高く、寛解するにつれて低下したが、TLR9 が SLE 病態に対して抑制的に機能したか、あるいは促進的に機能したかについては不明である。

一方、TLR7/9は小胞体に発現し、リソゾームへ移動して細胞内に取り込まれた核酸などを認識する。したがって、TLR7/9は細胞内に局在するものと思われるが、そのsoluble formが血清中で検出され、特にsTLR9はSLEの活動性を反映して変化したことは興味深い。TLR7/9がどのような機序でsoluble formとして血清中で検出されるのか、その機序に、SLEの病態がどのようにかかわっているのか、今後の検討が必要であろう。

#### E. 結論

自然免疫系のセンサーであるTLR2、TLR4、TLR7、TLR9のうち、soluble formのTLR9 (sTRL9)が活動期の小児SLE血清中に増加していた。この結果は、SLEの病態に自然免疫系が関与することを示唆するが、TLR9がsoluble formとして疾患活動期に血中に放出される機序については、今後の検討が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 若年発症サルコイドーシス/Blau症候群. 武井修治. アレルギー・免疫 30(10) : 1438-1446, 2013
- 2) 自然免疫と適応免疫のクロストーク～SLEにおける自然免疫の機能不全. 武井修治. 臨床とウイルス(in press) 2014.

##### 2. 学会発表

- 1) Quantitative image analysis of articular involvement in Blau syndrome by radiographic carpal length and ultrasound. Yamatou T, Kubota T, Nonaka Y, Akaike H,

Nagakura T, Yamasaki Y, Takezaki T, Nerome Y, Imanaka H, Ikeda K, Kambe N, Takei S. Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology 2013, 2013.10.25. San Diego, USA,

- 2) Changes in serum IL-18 level in systemic juvenile idiopathic arthritis patients who attained drug-free remission by tocilizumab. Kubota T, Yamatou T, Nonaka Y, Akaike H, Nagakura T, Yamasaki Y, Takezaki T, Nerome Y, Imanaka H, Takei S. Annual Scientific Meeting of American College of Rheumatology 2013, 2013.10.25 San Diego, USA.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

厚生労働科学研究 難治疾患克服研究事業  
分担研究報告書

「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」研究

研究分担者 小原 収

(独)理研統合生命医科学研究センター、統合ゲノミクス研究グループ

(前：(独)理研免疫・アレルギー科学総合研究センター、免疫ゲノミクス研究グループ)

研究要旨：本邦での自己炎症疾患の症例を集積し、それによってより正確な診断と治療法選択を実現するために、臨床医によって集められた情報を格納・整理するための情報基盤としての自己炎症データベースのフレームワークをインターネット上に構築した。こうした情報基盤整備と並行して、多様な自己免疫疾患の遺伝的原因を特定するための新しい検査システムとして、次世代シーケンシングを活用した遺伝子パネル解析系の実運用を開始した。更に、このように既知遺伝子変異の可能性が除外された症例については、新規な自己炎症疾患原因の探索のために全エクソンシーケンシングを実施した。最終的には、単球などの機能解析による診断が必須であることを鑑み、マイクロデバイス技術を駆使した1細胞サイトカイン分泌計測システムを構築し、単球からのIL1 $\beta$ の放出プロセスの実時間観察を実現した。

A. 研究目的

本研究は、本邦における自己炎症疾患およびその類縁疾患の専門家を集積して、“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”研究班を組織することを第一目標にする。その主な対象疾患として、CAPS、TRAPS、高IgD症候群、Blau症候群、家族性地中海熱、PAPA症候群、中條・西村症候群、全身型若年性特発性関節炎、PFAPA、小児期発症SLE、川崎病、CRMOを取り上げる。具体的には、1) 自己炎症疾患およびその類縁疾患の診断体制の整備・開発、2) 患者登録の導入による長期的な患者予後調査システムの構築、3) 各疾患治療ガイドラインの作成、4) 新規治療開発の基盤形成、を試みるが、この分担研究では、臨床アーカイブ構築と遺伝子検査による診断系の確立とその運用を目的とする。

B. 研究方法

- 研究分担者の本務先である(公財)かずさDNA研究所とも協力しながら、原発性免疫不全症臨床アーカイブPIDJを構築維持してきた経験を活かし、研究班で練られた基本データベースデザインに従った、自己炎症疾患に特化した臨床アーカイブのための情報科学的なデータベース構築と外部公開を行う。
- 自己炎症疾患には既に原因遺伝子が複数知られているが、「炎症」という広い範囲の共通の症状を有するために症状からの原因遺伝子

の特定が困難である。このような多原因候補遺伝子に対する遺伝子検査を迅速・低コストに行うために、次世代シーケンシング技術と組み合わせた自己炎症疾患群のためのパネル遺伝子解析パイプラインを確立・運用する。

- これらの既知遺伝子に対する除外診断が終わった症例について、より網羅性の高い全エクソンシーケンシングを活用して、新規な自己炎症疾患の原因遺伝子を探索する。

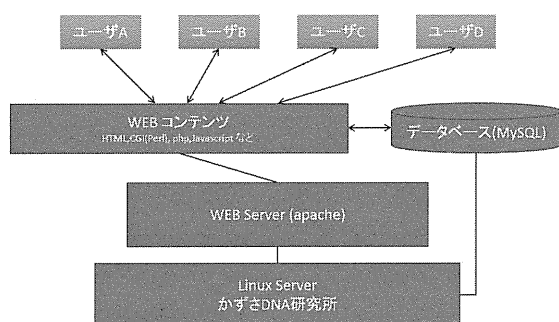
(倫理面への配慮)

当分担研究のために、理化学研究所の倫理審査委員会において、既知遺伝子の遺伝子検査だけでなく、全エクソンシーケンシングデータの情報を解析することの承認を得た。なお、本研究分担者の本務先であるかずさDNA研究所においても、免疫不全症候群の一つとして自己炎症疾患の網羅的遺伝子解析の倫理審査の承認を得て、全エクソンシーケンシング並びにRNAシーケンシングはいずれの機関でも実施可能とした。特に、データベース運用はかずさDNA研究所の外部サーバーを用いるため、こうした匿名化臨床アーカイブの専門医に限定したアクセスを目的としサーバー運用について、かずさDNA研究所の倫理審査委員会に諮り承認を得た。

C. 研究結果

研究代表者のグループによる自己炎症データベース登録情報の選定に基づき、一次的な原発性免疫不全症臨床アーカイブ PIDJ への登録の次の段階として進められる、自己炎症特異的なデータベースのプロトタイプをリレーショナルデータベースとして構築した(図1)。出来上がったデータベースに、本研究班の班員に実際にテスト入力してもらい、そのフィードバックの取り込みを通じて、ベータ版を完成した。本データベースは、研究班のホームページと伴に、かずさ DNA 研究所の外部サーバーを利用して公開している。

図1. 自己炎症臨床アーカイブ構成



自己炎症症候群のように、臨床情報から原因遺伝子の特定が難しい症例については、複数遺伝子の同時検査が強く求められており、それによる確定診断率の向上が強く望まれる。しかし、従来のキャピラリーシーケンシングではそれに要する労力と時間が膨大なものとなり、広く行われることはなかった。そこで、このような現実の問題を解決するために、本研究では自己炎症関連の遺伝子パネルを作り、卓上型次世代シーケンサー(ロシュ社、GS Junior)を用いて一度にパネル内の10遺伝子程度の配列解析を実現するための情報解析までを含めたパイプラインを構築し、今年度は実検体の解析のステップに入った。また、本研究班代表らのグループと伴に明らかにしたNLRP3遺伝子のモザイク変異検出のためにも同じく卓上型次世代シーケンサーによる解析を行った。更に、他の症例でもモザイク現象によって発症しているケースがないかどうかを確かめるために、より配列解析能力の高い卓上次世代シーケンサー(イルミナ社、MiSeq)を用いた解析システムも立ち上げることができた。

更に、こうして既知遺伝子の変異の可能性が除外された症例について、厚生労働科学研究費補助金(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難病関係研究分野))「次世代シーケンサーを駆使した希少遺伝性難病の原因解明と治療法開発の研究」班と連携して、次世代シーケンサー(イルミナ社 HiSeq1500)を用いた網羅的な全エクソン解析とRNAシーケンシングを実施した。得られた配列データはオープンソース情報解析ツールを組み合わせたバイオインフォマティ

クス解析パイプラインに流し込み、臨床グループと候補遺伝子変異の絞り込み作業を進めた。その結果、複数の症例において疾患発症原因と思われる遺伝子変異を同定し、その変異の機能解析を進めている。また、最終的な疾患モデルマウス作製も進め、臨床例で見られた変異を対応するマウス遺伝子に導入したノックインマウスのES細胞の作製に成功した。現在、キメラマウス作製の検討中である。

最後に、単球などの1細胞からのタンパク質の分泌プロセスを実時間可視化する系を構築し、大量のIL1 $\beta$ 放出が細胞膜の破壊に引き続いて起きることを実際に観察した。

#### D. 考察

- 1) 自己炎症特異的臨床アーカイブのデータベースの完成により、この情報基盤を通じて、本邦の自己炎症症例の全体像の把握が大きく加速されることが期待できる。
- 2) 自己炎症関連の複数の遺伝子解析パネルを構築・運用開始できたことで、従来よりも確実に自己炎症症例の遺伝的な素因に迅速に到達することが可能となった。
- 3) 次世代シーケンサーによる網羅的なエクソン配列解析によって最終的な遺伝子変異を疾患原因と結論付けられたケースは、既に病原性が知られている遺伝子に見られた新規変異が非典型的な症状を示すケースであることが多い。この事実は、次世代シーケンサーにより網羅性の高い遺伝子変異の探索をすることで、遺伝子レベルでの確定診断の成功例を確実に増やせることを強く期待させる。
- 4) 全エクソン解析においても、これまで疾患関連性の知られていない遺伝子に変異が見られた場合は機能解析からのアプローチが不可欠であり、RNAシーケンシングも含めた多階層にわたる機能情報収集のパイプラインが重要な貢献をすると考えられる。
- 5) これまで詳細な放出プロセスが不明であったIL1 $\beta$ の放出プロセスを可視化できたことは、今後炎症反応がどのようにして伝搬・拡大していくかのシステム論を考える上での重要な知見を与えてくれた。

#### E. 結論

- 1) 自己炎症疾患データに特化したデータベースをインターネット上に構築し、そこでのデータ登録と継続的な運用を開始する準備を完成した。
- 2) 自己炎症疾患遺伝子診断のための、卓上型次世代シーケンサーを駆使したパネル遺伝子解析パイプラインを構築し、実運用を開始した。
- 3) 従来法によるアプローチで既知原因遺伝子変異の除外診断の終わった症例について、次世代シ