

ーケンシングによる網羅的エクソン配列解析とRNA シーケンシングを実施し、疾患発症原因候補となる変異リストを作製した。そのいくつかについては、ほぼ確実に発症原因と思われる遺伝子変異を同定した。

4) 1細胞からのタンパク質の分泌過程の実時間観察系を単球からの IL1 $\beta$ 放出現象に応用し、細胞膜の破壊の直後に大量の IL1 $\beta$ 放出が起きていることを明らかにした。

## F. 健康危険情報 なし

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

1. Saito Y, Kagami SI, Sanayama Y, Ikeda K, Suto A, Kashiwakuma D, Furuta S, Iwamoto I, Nonaka K, Ohara O, Nakajima H. AT-rich interactive domain-containing protein 5a functions as a negative regulator of ROR $\gamma$ t-induced Th17 cell differentiation. *Arthritis Rheum.* 2013 [Epub ahead of print]
2. Nakagawa K, Gonzalez-Roca E, Souto A, Kawai T, Umebayashi H, Campistol JM, Cañellas J, Takei S, Kobayashi N, Callejas-Rubio JL, Ortego-Centeno N, Ruiz-Ortiz E, Rius F, Anton J, Iglesias E, Jimenez-Treviño S, Vargas C, Fernandez-Martin J, Calvo I, Hernández-Rodríguez J, Mendez M, Dordal MT, Basagaña M, Bujan S, Yashiro M, Kubota T, Koike R, Akuta N, Shimoyama K, Iwata N, Saito MK, Ohara O, Kambe N, Yasumi T, Izawa K, Kawai T, Heike T, Yagüe J, Nishikomori R, Aróstegui JI. Somatic NLRP3 mosaicism in Muckle-Wells syndrome. A genetic mechanism shared by different phenotypes of cryopyrin-associated periodic syndromes. *Ann Rheum Dis.* 2013 [Epub ahead of print]
3. Abe J, Nakamura K, Nishikomori R, Kato M, Mitsuiki N, Izawa K, Awaya T, Kawai T, Yasumi T, Toyoshima I, Hasegawa K, Ohshima Y, Hiragi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Kikuchi M, Osaka H, Ohya T, Ninomiya S, Fujikawa S, Akasaka M, Iwata N, Kawakita A, Funatsuka M, Shintaku H, Ohara O, Ichinose H, Heike T. A nationwide survey of Aicardi-Goutieres syndrome patients identifies a strong association between dominant TREX1 mutations and chilblain lesions: Japanese cohort study. *Rheumatology (Oxford).* 2013 [Epub ahead of print]
4. Rawat A, Singh S, Suri D, Gupta A, Saikia B, Minz RW, Sehgal S, Vaiphei K, Kamae C, Honma K, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Mitsuiki N, Ohara O, Chan KW, Lau YL. Chronic Granulomatous Disease: Two Decades of Experience From a Tertiary Care Centre in North West India. *J Clin Immunol.* 2013 [Epub ahead of print]
5. Higuchi Y, Shimizu J, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Takada H, Ishimura M, Hara T, Ohara O, Asagoe K, Kubo T. The identification of a novel splicing mutation in ClqB in a Japanese family with Clq deficiency: a case report. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2013 Oct 28;11(1):41.
6. Wada T, Sakakibara Y, Nishimura R, Toma T, Ueno Y, Horita S, Tanaka T, Nishi M, Kato K, Yasumi T, Ohara O, Yachie A. Down-regulation of CD5 expression on activated CD8(+) T cells in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with perforin gene mutations. *Hum Immunol.* 2013 Dec;74(12):1579-85.
7. Lee YW, Yang EA, Kang HJ, Yang X, Mitsuiki N, Ohara O, Miyawaki T, Kanegane H, Lee JH. Novel mutation of IL2RG gene in a Korean boy with X-linked severe combined immunodeficiency. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2013;23(1):65-7.
8. Suzuki J, Kuwahara M, Tofukuji S, Imamura M, Kato F, Nakayama T, Ohara O, Yamashita M. A novel small compound SH-2251 suppresses Th2 cell-dependent airway inflammation through selective modulation of chromatin status at the Il5 gene locus. *PLoS One.* 2013 Apr 16;8(4):e61785.
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 May;33(4):857-64.
10. 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.*

2) 学会発表

1. 第七回日本免疫不全症研究会 「食道潰瘍を反復した1型高IgE症候群の1例」 山本崇裕、大西秀典、寺本貴秀、桑原秀次、久保田一生、大塚博樹、川本典生、加藤善一郎、深尾敏幸、谷内江昭宏、小原收 福岡 2014年1月25日
2. 第七回日本免疫不全症研究会 「複合型免疫不全を呈したsLC46A1新規変異による先天性葉酸吸収不全症」 千田奈津子、山田雅文、有賀正、岸本健治、小林良二、小林邦彦、小原收 福岡 2014年1月25日
3. かずさDNA研究所/産総研生命情報工学研究センター共催ワークショップ バイオインフォマティクスとゲノム医療ーその課題と将来展望ー 「クリニカルゲノミクスの現状と課題」 小原收 東京 2013年11月
4. The 5th LJI & IMS-RCAI Workshop “Post-GWAS genomic analyses: Mind and bridge the gaps” Ohara O Yokohama, October, 2013
5. 第40回日本毒性学会学術年会 シンポジウム 毒性オミクス「生体システムダイナミクス理解のための統合ゲノミクス解析の将来展望」 小原收 千葉 2013年6月
6. 第116回日本小児科学会学術集会 「ゲノミクスを基礎とした新しい病因探索法」分野別シンポジウム「原発性免疫不全症:新しい疾患、トピックス」小原收 広島 2013年4月
7. 第58回日本人類遺伝学会「次世代シーケンシング技術とゲノミクス解析」シンポジウム:次世代シーケンサーを用いた遺伝性疾患解析の現状と課題 小原收 仙台 2013年11月
8. 第4回関東甲越免疫不全症研究会 「IgA単独欠損症として紹介され、TREC/KRECの結果からRAG1異常と同等しえた1例」加藤環、釜江智佳子、本間健一、池川健、横須賀とも子、和田泰三、谷内江昭宏、西田直徳、金兼弘和、満生紀子、小原收、今井耕輔、森尾友宏、野々山恵章 2013年9月
9. 第41回日本臨床免疫学会総会 「本邦におけるICF (Immunodeficiency with Centromeric instability and Facial anomalies) 症候群5例の検討」 藤環、釜江智佳子、満生紀子、小原明、林正俊、野口恵美子、久保田健夫、本間健一、小原收、今井耕輔、野々山恵章 下関 2013年11月
10. 日本人類遺伝学会第58回大会 「次世代シーケンサーを用いてICF (Immunodeficiency with centromeric instability and facial anomalies) 症候群と診断した2例」 釜江智佳子、満生紀子、小原明、林正俊、野口恵美子、本間健一、小原收、今井耕輔、久保田健夫、野々山恵章 仙台 2013年11月
11. 第41回日本臨床免疫学会総会 「BTK変異をみとめたIgA単独欠損の解析 (IgA deficiency caused by the missense mutation in the BTK gene)」満生紀子、今井耕輔、Xi YANG、金兼弘和、小阪嘉之、高田英俊、水谷修紀、小原收、森尾友宏 下関 2013年11月
12. 15th International Congress of Immunology 2013 “Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin  $\kappa$ -deleting recombination excision circles” C. Kamae, N. Nakagawa, H. Sato, K. Honma, N. Mitsuiki, O. Ohara, H. Kanegane, T. Morio, K. Imai and S. Nonoyama, Milan, Italy, Aug, 2013
13. 3rd Sardinian Summer School “Post-GWAS animal models” Ohara O. Pula, Italy, September, 2013
14. 第34回日本炎症・再生医学会 “CINCA症候群/NOMID患者単球における、IL-1・分泌能の1細胞解析” 中川権史、志村七子、白崎善隆、山岸舞、井澤和司、西小森隆太、河合朋樹、八角高裕、平家俊男、小原收 京都、2013年7月
15. 第41回日本臨床免疫学会「Muckle-Wells症候群におけるNLRP3体細胞モザイク変異の検討」中川権史、西小森隆太、井澤和司、河合朋樹、八角高裕、河合利尚、梅林宏明、武井修治、小林法元、小原收、Eva Gonzalez-Roca、Juan I. Arostegui、平家俊男 下関、2013年11月27日
16. 第23回日本小児リウマチ学会 「一般検査データから見た家族性及び二次性血球貪食性リンパ球組織球症の特徴と病態の考察」八角高裕、堀雅之、井澤和司、西小森隆太、小原收、平家俊男 大宮、2013年10月
17. 第23回日本小児リウマチ学会 “Muckle-Wells症候群におけるNLRP3体細胞モザイク変異の検討” 中川権史、西小森隆太、井澤和司、河合朋樹、八角高裕、河合利尚、梅林宏明、武井修治、小林法元、小原收、Eva Gonzalez-Roca、Juan I. Arostegui、平家俊男 大宮、2013年10月
18. 第58回日本人類遺伝学会 「エクソンスキップに伴い、非典型的な表現型を呈したFilamin A異常症の兄弟例」小田紘嗣、西小森隆太、中

川権史、日衛嶋栄太郎、井澤和司、河合朋樹、  
沼部博直、小原收、平家俊男 仙台 2013年  
11月

19. Nakagawa K, Shimura N, Shirasaki Y,  
Yamagishi M, Izawa K, Nishikomori R, Kawai  
T, Yasumi T, Heike T, Ohara O. Single cell  
fluorescent immunoassay of CINCA/NOMID.  
7<sup>th</sup> international congress of FMA and AIDs,  
Lausanne, May 22, 2013.
20. Y. Shirasaki, M. Yamagishi, K. Izawa, K.  
Nakagawa, A. Nakahara, N. Suzuki, J.  
Mizuno, T. Sekiguchi, T. Heike, R.  
Nishikomori, S. Shoji, O. Ohara, "  
Real-time secretion analysis revealed  
correlation of IL-1beta release and loss  
of cell membrane integrity", MicroTAS  
2013, pp.1686-1688, 27-31 Oct. 2013,  
Freiburg, Germany

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定も含  
む）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

本邦FMF症例の遺伝子変異型、臨床像の特徴

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 FMF確定症例311名において、*MEFV*遺伝子変異型と、臨床像の関連について解析した。FMF症例311名中286名（92.0%）に*MEFV*遺伝子変異を認めた。*MEFV*遺伝子変異を認めた286名中、exon10に変異（M694I、M680I）を認めた症例は126名（40.5%）で残りの160名（51.4%）は、exon1（E84K）、exon2（L110P、E148Q、R202Q、G304R）、exon3（P369S、R408Q）に変異を認めた。exon10に変異を認めた症例は、漿膜炎の頻度が、有意に高く、遺伝子変異型と臨床像の間に関連がみられることがわかった。

#### A. 研究目的

これまでのFMFの全国調査結果より、本邦FMF症例は、海外症例と臨床像、遺伝子変異型が異なることが示唆されている。臨床像と遺伝子変異型との関連（genotype/phenotype relation）を明らかにする目的で、FMFの確定診断がなされた311名の遺伝子変異型臨床像との関連について解析した。

#### B. 研究方法

*MEFV*遺伝子解析結果が得られたFMFの確定診断がなされた症例を対象に遺伝子変異型と臨床症状の関連を検討した。臨床症状、遺伝子変異型、コルヒチンに対する反応性からFMFの診断を行った。FMFの診断は、Tel-Hashomerの診断基準に準じて行い、確定例は、typical FMF、atypical (incomplete) FMFの二群に分類した。

（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た。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と診断された311名は、Tel-Hashomer Criteriaで、典型例178名、非典型例133名に分類された。両群の臨床症状を単変量解析で比較すると、典型例において発熱発作の回数が有意に多く、（ $1.1 \pm 0.9$ /月 vs  $0.8 \pm 0.8$ /月）、発熱期間が短く（ $2.3 \pm 1.0$ /日 vs  $5.4 \pm 3.2$ /日）、胸膜炎症状（49.4% vs 23.2%）、腹膜炎症状（65.7% vs 40.6%）の頻度が典型例で有意に高いことが判った。また典型例では、FMFの家族歴が多く（28.1% vs 14.3%）、遺伝子変異型では*MEFV* exon10の変異保有率が有意に

高く (62.4% vs 11.3%)、逆にexon3の変異保有率が、有意に低い (6.2% vs 22.6%) ことが判った。多変量解析では、発熱期間 (3日以内)、およびMEFV exon10の変異が典型例の独立したリスク因子であった。

MEFV遺伝子変異で、エクソン10変異を高浸透性変異 (H) エクソン10以外の変異を低浸透性変異 (L) と定義して全症例をこれら組み合わせで分類すると、高浸透性変異 (H) を保有しない症例では、半数以上の症例が、非典型例に該当することが判った。

#### D. 考察

日本人FMF症例の病型は、海外症例と異なっていることが考えられてきたが、今回の検討結果よりFMFと診断された約4割が、Tel-Hashomer Criteriaでは非典型例に分類されることが判った。またこの非典型例は、典型例に比べて、いくつか異なる臨床的特徴を有しているが、多変量解析の結果からは、発熱期間、MEFVエクソン10変異の有無が、両群に識別する独立した因子であることが判った。FMFの診断は、海外においては、臨床症状をベースにおいてなされる。日本人FMF症例は、海外症例に比べMEFVエクソン10変異例、およびホモ接合体の比率が低いなどの特徴がある。これら遺伝子変異に関する所見をFMFの診断基準に加えることは、病型を識別するうえで有用であることが示唆された。

#### E. 結論

本邦FMF症例は、海外症例に比べ遺伝子変異型が大きく異なり、MEFV exon10に変異を認めない症例においては、漿膜炎の頻度が低く、一部の症例では、典型的なFMFの症状を呈さないことが判った。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Fujikawa K, Migita K, Tsukada T, Umeda M, Nonaka F, Kawakami A, Eguchi K. Interleukin-6 targeting therapy in familial Mediterranean fever. Clin Exp Rheumatol. 2013 May-Jun;31(3 Suppl 77):150-1.
2. 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.
3. Mori S, Yonemura K, Migita K. Familial Mediterranean Fever Occurring in an Elderly Japanese Woman with Recent-onset Rheumatoid Arthritis. Intern Med. 2013;52(3):385-388.
4. Ishiguro T, Takayanagi N, Kobayashi K, Migita K, Yanagisawa T, Hoshi T, Sugita Y. Magnetic resonance imaging can detect thoracic inflammation due to familial Mediterranean fever. Mod Rheumatol. 2013 May;23(3):604-7.
5. Eguchi M, Miyashita T, Shirouzu H, Sato S, Izumi Y, Takeoka A, Ohno T, Sumiyoshi R, Nishino A, Jiuchi Y, Nonaka F, Eguchi K, Kawakami A,

- Migita K. Coexistence of polymyositis and familial Mediterranean fever. *Mod Rheumatol*. 2013 Mar;23(2):374-8.
6. Nonaka F, Migita K, Haramura T, Sumiyoshi R, Kawakami A, Eguchi K. Colchicine-responsive protracted gouty arthritis with systemic inflammatory reactions. *Mod Rheumatol*. 2013 Jan 10. [Epub ahead of print]
  7. Nakamura T, Migita K, Ando Y, Takaoka H, Suzushima H, Shiraishi N. Amyloid A amyloidosis in a Japanese patient with familial Mediterranean fever associated with homozygosity for the pyrin variant M694I/M694I. *Mod Rheumatol*. 2012 Sep 29. [Epub ahead of print]
  8. Migita K, Agematsu K, Yazaki M, Nonaka F, Nakamura A, Toma T, Kishida D, Uehara R, Nakamura Y, Jiuchi Y, Masumoto J, Furukawa H, Ida H, Terai C, Nakashima Y, Kawakami A, Nakamura T, Eguchi K, Yasunami M, Yachie A. Genotype-Phenotype Correlations in Japanese Patients with Familial Mediterranean Fever. *Medicine*. 2014 in press.
  9. 右田清志, 野中文陽, 和泉泰衛, 江口勝美, 中村 正, 井田弘明, 上松一永. 家族性地中海熱の臨床. 特集 *Clinical Science* 自己炎症症候群の新しい知見. 炎症と免疫 2013;21(1):40-46.
  10. 川上 純, 右田清志, 井田弘明. 自己炎症疾患. 特集 免疫反応と疾患. 自己炎症疾患・炎症性疾患の免疫異常. *medicina* 2013;50(3):458-462.
  11. 右田清志, 和泉泰衛, 野中文陽, 江口勝美. 日本人における自己炎症疾患関連遺伝子の異常. 特集 <Basic Science> リウマチ・膠原病のゲノム解析 update. 炎症と免疫. 2013;21(5):401-409.
  12. 右田清志, 和泉泰衛, 野中文陽, 江口勝美. 遺伝性自己炎症疾患—家族性地中海熱—. I. 炎症の諸相. 別冊 *BIO Clinica* 2013;2(2):52-57.
  13. 右田清志, 和泉泰衛, 野中文陽, 江口勝美. 痛風. *Clinical Science* 自然免疫が関与する炎症性疾患. 炎症と免疫 2013;21(6):517-524.
  14. 右田清志. リウマチ性疾患とIL-1阻害療法. 臨床リウマチ医のための基礎講座. 臨床リウマチ 2013;25(4):299-301.
  15. 江口勝美, 野中文陽, 右田清志. 自己炎症疾患の新たな展開—内科医でも知っておく必要があります—. *アレルギー*—2013;62(8):942-949.  
(発表誌名巻号・頁・発表年等も記入)
2. 学会発表
    1. 右田清志, 和泉泰衛, 井田弘明, 増本純也, 谷内江昭宏, 上松一永. 家族性地中海熱の臨床像 (全国調査集計結果). シンポジウム. 第116回日本小児科学会学術集会. 広島. 2013.4-19-21.
    2. 右田清志, 井田弘明, 和泉泰衛, 宮下賜一郎, 野中文陽, 江口勝美, 寺井千

- 尋, 古川 宏, 川上 純, 増本純也, 矢崎正英, 中村昭則, 谷内江昭宏, 上松一永. 家族性地中海熱の臨床像. シンポジウム. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会／第22回国際リウマチシンポジウム. 京都. 2013.4.18-20.
3. 藤川敬太, 塚田敏昭, 岩本直樹, 一瀬邦弘, 山崎聡士, 中村英樹, 川上 純, 岩永 希, 植木幸孝, 右田清志, 井田弘明. 原発性肥大性骨関節症患者の疾患遺伝子解析とMEFV変異の検討. ワークショップ. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会／第22回国際リウマチシンポジウム. 京都. 2013.4.18-20.
4. 野中文陽, 住吉玲美, 右田清志, 川上純, 江口勝美. 中高年で発症した家族性地中海熱 (Familial Mediterranean fever: FMF) 11例の臨床的特徴. ワークショップ. 第57回日本リウマチ学会総会・学術集会／第22回国際リウマチシンポジウム. 京都. 2013.4.18-20.
5. 志村紀彰, 神菌淳司, 小野佳代, 天本正乃, 市川光太郎, 右田清志. 非典型家族性地中海熱の臨床症状とMEFV遺伝子exson 1/2変異の意義. 口演発表. 第116回日本小児科学会学術集会. 広島. 2013.4.19- 21.
6. 小松成綱, 本間大, 林圭, 井川哲子, 辻ひとみ, 高橋英俊, 山本明美, 右田清志, 井田弘明, 飯塚一. 家族性地中海熱に伴う壊死性血管炎の1例. ポスタ. 第112回日本皮膚科学会総会. 横浜. 2013.6.14-16.
7. 森 俊輔, 米村憲輔, 右田清志. 早期関節リウマチの高齢女性に発症した家族性地中海熱の1症例. 一般演題. 第302回日本内科学会九州地方会. 別府. 2013.8.24.
8. 清水俊匡, 右田清志, 野中文陽, 川上純, 江口勝美. コルヒチン抵抗家族性地中海熱にトシリズマブが奏功した一例. 一般演題. 第46回九州リウマチ学会. 佐賀. 2013.9.7-8.
9. 松岡直樹, 坪井雅彦, 一瀬恭史, 岩永淳子, 川上 純, 右田清志. 家族性地中海熱 (FMF) を併発した関節リウマチの2症例. 一般演題. 第46回九州リウマチ学会. 佐賀. 2013.9.7-8.
10. 野中文陽, 右田清志, 清水俊匡, 川上純, 江口勝美. MEFVおよびTNFRSF1A遺伝子のヘテロ変異を有し, 興味深い臨床経過を認めたSLEの1例. 一般演題. 第46回九州リウマチ学会. 佐賀. 2013.9.7-8.
11. 久永紗知, 鎌田理嗣, 大野直義, 荒木利卓, 右田清志. 診断に苦慮した家族性地中海熱の1例. 一般演題. 第303回日本内科学会九州地方会例会. 沖縄. 2013.11.16.
- 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

## TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）の病態の解明

研究分担者 堀内 孝彦 九州大学病院別府病院内科教授

### 研究要旨

全国調査によって判明した TRAPS 疑い患者は 263 名であり、同意の得られた 167 名について遺伝子解析を行い 10 名（10 家系）に *TNFRSF1A* の異常を見出した。8 名は T61I、2 名はそれぞれ国内外で報告のない V136M と S321I であった。これらの新しい異常に加えて、既報、未報すべての異常を合わせると本邦には 13 種類の遺伝子異常があり、少なくとも 35 家系の TRAPS が存在することが明らかになった。さらにこれら本邦 TRAPS の臨床症状、経過を欧米の 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ものの、腹痛、胸痛、筋肉痛、眼症状の頻度が本邦 TRAPS ではきわめて低いことがわかった。併せて機能的解析を並行して行い、構造に大きな変化をきたして TNF 受容体 1 型が細胞表面に発現できない構造的変異と細胞表面には発現できる非構造的変異の大きく二つに分類できることを明らかにした。

### A. 研究目的

TNF 受容体関連周期性症候群 (TNF receptor-associated periodic syndrome: TRAPS) は近年国内外で注目されている自己炎症症候群のなかでも代表的な疾患である。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。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。わが国でも TRAPS の疾患概念が浸透するにつれて次第にその症例の報告が散見されるようになった。しかしながら TRAPS の発症メカニズムは十分解明されていると

は言い難く、またわが国以外のアジア各国での報告も皆無とあってよい。TRAPS には解明すべき課題が多く残されている。

本研究では、平成 22 年度から 24 年度までに行われた「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」研究班 (研究代表者 堀内孝彦) の成果をさらに発展させて、1) わが国における TRAPS の臨床的特徴を明らかにし、2) わが国でみられる遺伝子異常の細胞生物学的解析により病態解明を行った。

### B. 研究方法

#### 1) 遺伝子解析

集積した TRAPS 疑い症例について順次分子診断を開始し、平成 26 年 1 月現在で合計 167 名について解析を終了した。遺伝子解析は、九州大学大学院病態修復内科学分野ならびに生体防御医学研究所において我々が構築してきた解析システムを用いて、*TNFRSF1A*



に加えて類似の症状を呈しうる自己炎症疾患関連遺伝子、*MEFV* (家族性地中海熱)、*MVK* (メバロン酸キナーゼ欠損症、別名 高IgD 症候群) について解析した。

## 2) わが国 TRAPS の臨床像の特徴の解析

私どもの研究で新たに診断した 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。

## 3) ヒト線維芽細胞 293T 細胞における変異 *TNFRSF1A* 遺伝子発現

293T 細胞を用いて変異 *TNFRSF1A* 遺伝子を発現させる系を確立した。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との、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発現の程度を比較した。

## C. 研究結果

### 1) 遺伝子解析

同意を得られた TRAPS 疑い 167 名について *TNFRSF1A* (TRAPS の責任遺伝子)、*MEFV* (家族性地中海熱の責任遺伝子)、*MVK* (メバロン酸キナーゼ欠損症の責任遺伝子) の全コーディングエクソンの遺伝子解析を行った。

#### ・TNF 受容体 1 型遺伝子 (*TNFRSF1A*) の異常

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 T61I 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、T61I 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 T61I を持っている場合には TRAPS 発症の危険因子となりうることが明らかになった。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。

そのほかには S321I (exon9)、V136M (exon4) を 1 例ずつ認めた。これらの異常は健常人に 363 名には認めなかったことから変異と考えられる。

#### ・家族性地中海熱の原因遺伝子 (*MEFV*) の異常

#### ・メバロン酸キナーゼ欠損症の原因遺伝子

(MVK) の異常

これら遺伝子異常の詳細については今回の報告では割愛する。結論から言うとこれら遺伝子異常の頻度は我々の患者の中には少なかった。*MEFV*については多数の多型を認めたが、家族性地中海熱の典型的な遺伝子異常は M61I をヘテロに有する 1 例のみであった。

2) わが国の TRAPS 患者の臨床症状の特徴

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 T61I 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 (C15Y, N25D, C30Y, C30R, T50M, T61I, C70S, C70G, C88Y, N101K, V125M, V36M, S321I) 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。

3) T90I は大きな構造変化を伴わない

一般的に *TNFRSF1A* 異常は大きく 2 種類に分類される。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傷であり代表的なものはシステイン(C)の変異による S-S 結合の破壊である。我々は構造的変異、非構造的変異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別することを可能にした。わが国の TRAPS 患者で最も患者が多いのは T61I であるが、この異常は細胞表面への発現は低下していなかった。すなわち T61I は非構造的変異であり、変異の種類としては軽いと考えられた。

#### D. 考察

わが国の TRAPS 患者は、今回の研究で発見した 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 T61I 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、T61I を含めて 8 種類はわが国独自のものであった。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。

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異常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 T61I 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。その一方で、たとえば典型的異常である C30Y は細胞表面に発現することができなかった。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) であることが確認された。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。

## E. 結論

わが国では TRAPS 患者は少なくとも 35 家系存在した。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。頻度として最も多いのは T61I であったが、変異遺伝子の発現実験により、タンパク質の折り畳み不良という観点から考えると、程度の軽い異常であることが推測された。

## F. 健康危険情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

・ 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

・ 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

・ 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): 210-217, 2013

### 2. 学会発表

・ 堀内孝彦、上田尚靖、石ヶ坪良明、井田

弘明、楠原浩一、高橋裕樹、武井修治、田平知子、藤井隆夫、蓑田清次、宮原寿明、鷺尾昌一、井上靖、有信洋二郎、新納宏昭、塚本浩、赤司浩一：

TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) 疑い患者の遺伝子解析.

第 56 回日本リウマチ学会総会 平成 24 年  
4 月 28 日 東京

・上田尚靖、塚本浩、石ヶ坪良明、井田弘明、楠原浩一、高橋裕樹、武井修治、田平知子、徳永章二、藤井隆夫、蓑田清次、宮原寿明、鷺尾昌一、田中淳、綾野雅宏、赤司浩一、堀内孝彦：

我が国における TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の特徴.

第 57 回日本リウマチ学会総会 平成 25 年  
4 月 20 日 京都

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

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

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  
原発性免疫不全症患者電子医療記録：Pier登録にみる自己炎症性疾患臨床症状の解析  
研究分担者：今井耕輔（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科  
小児・周産期地域医療学講座）

研究要旨

PIDJ全体で今年度は538例の登録があり、その中の34.8%、187例が自己炎症性疾患であった。うち106例（56.7%）が京都大学小児科に紹介された症例であった。

当科では、160例の紹介例中18例が自己炎症症候群の疑い患者であった。臨床診断としては、家族性地中海熱(FMF)疑い5例、TRAPS疑い3例、Muckle-Wells症候群疑い2例、成人Still病あるいは若年性関節リウマチ2例、PAPA症候群疑い2例、若年性サルコイドーシス1例、潰瘍性大腸炎1例、病型不明例2例であった。13例について候補遺伝子解析を行い、Muckle-Wells症候群の1例(NLRP3 : c.1321G>A, p. Ala441Thr, Missense, hetero) および家族性地中海熱の1例(MEFV: c.442G>C, p. Glu148Gln, Missense, homo) の遺伝子異常が同定された。

自己炎症性疾患は、候補遺伝子探索による遺伝子診断に至る例が少なく、複数の候補遺伝子についての次世代シーケンサーを用いたシーケンス解析の必要性が示唆された。

患者電子医療日記であるPierに熱型を登録している病型不明(MEFV: exon 3, c.1105C>T/C, p. Pro369Ser; c.1223G>A/G, p. Arg408Gln, hetero) の不明熱患者1例で、熱型解析から、治療強度不足が示唆され、若年性関節リウマチに準じたメソトレキセート間欠投与の導入により、臨床症状の軽減に加え、登校が可能となり、QOLの向上が得られた。患者電子医療日記は、患者の積極的な観察記録を生かすことで、治療効果の判定、方針の決定に寄与することが可能であり、特に様々な症状を呈する自己炎症性疾患に対して、臨床症状の把握に大変有用であることが示唆された。

A. 研究目的

当科にPIDJネットワークを介して紹介されてきた原発性免疫不全症患者における自己炎症症候群患者について検討し、合わせて、患者電子医療日記Pierに登録された自己炎症症候群患者について、その臨床症状と治療効果の判定への有用性を検討することを目的とした。

B. 研究方法

当科に紹介されてきた自己炎症症候群で、臨床診断に応じて、かずさDNA研究所にて候補遺伝子解析を行った。内訳は、当科から4例、本学膠原病リウマチ内科から7例、群馬大学小児科から3例、その他の施設から4例であった。年齢は、50代2例、40代3例、30代3例、20代2例、5-10歳3例、0-3歳4例という内訳だった。

C. 研究結果

臨床診断としては、家族性地中海熱疑い5例、TRAPS疑い3例、Muckle-Wells症候群疑い2例、成人Still病あるいは若年性関節リウマチ2例、PAPA症候群疑い2例、若年性サルコイドーシス1例、潰瘍性大腸炎1例、病型不明例2例であった。13例について候補遺伝子解析を行い、Muckle-Wells症候群

の1例(NLRP3 : c.1321G>A, p. Ala441Thr, Missense, hetero) および家族性地中海熱の2例(MEFV: c.442G>C, p. Glu148Gln, Missense, homo1例, hetero1例) の遺伝子異常が同定された。ただし、MEFV変異患者のE148Q変異はSNPとされており、その意味づけに関しては、今後の課題である。

患者電子医療日記であるPier(<http://pier.kazusa.or.jp/pier/jsp>)には、57例の患者が登録をしているが、そのうち9例が自己炎症性疾患患者である(FMF6例、TRAPS2例、その他1例)。熱型を連日登録している病型不明(MEFV: exon 3, c.1105C>T/C, p. Pro369Ser; c.1223G>A/G, p. Arg408Gln, hetero) の不明熱患者1例で、熱型解析から、治療強度不足が示唆され、若年性関節リウマチに準じたメソトレキセート間欠投与の導入により、臨床症状の軽減に加え、登校が可能となり、QOLの向上が得られた(図1)。

D. 考察

当科へ紹介された18例中13例で候補遺伝子解析を行い、1例でNLRP3のヘテロ変異を認め、遺伝子診断が可能であった(7.7%)。MEFVについては、exon 3の変異は日本人20%超で見られるものであり、ホモ変異でも4%にみられるので、その病的意義については不明である。それ以外の病型については原因遺伝子の同定にい

たっており、次世代シーケンサーを用いた複数遺伝子解析を行うことで、これらの患者に対する遺伝子診断も可能となることが期待される。

**E. 結論**

当科にPIDJネットワークを介して紹介されてきた原発性免疫不全症患者160例における自己炎症症候群患者18例について検討し、1例でNLRP3変異を同定した。合わせて、患者電子医療日記Pierに登録されたMEFV変異を持つ自己炎症症候群患者1例について、その臨床症状と治療効果の判定への有用性が示唆された。今後、多数例への適用を行い、患者の予後およびQOL改善に寄与することができれば幸いである

**F. 研究発表**

**1. 論文発表**

- 1) 今井耕輔. 原発性免疫不全症の最新国際分類. 臨床免疫・アレルギー科 (2012). 58, 446-466
- 2) 今井耕輔. 自然免疫について. チャイルドヘルス (2013) 16, 608-613.
- 3) 今井耕輔. 第 15 章 原発性免疫不全 標準免疫学第三版 p392-p433, 2013

**2. 学会発表**

- 1) Mitsuiki N, Oshima K, Imai K, Ohara O, Morio T, Mizutani S. Genetic analysis for 207 cases with primary immunodeficiency (PID) consulted to a single center through PID network in Japan (PIDJ) in 5 years (2007-2011). 15th Biennial Meeting of the

European Society of Immunodeficiencies (ESID2012).

Florence, Italy. October. 2012.

- 2) Imai K, Yagi K, Sato H, Nonoyama T, Hara T, Ohara O, Miyawaki T. Primary Immunodeficiency electronic record; Pier, for the PID patients in Japan. 第 1 回国際原発性免疫不全学会 (International Primary Immunodeficiencies Congress). Estoril, Portugal, November, 2013.

**G. 知的所有権の出願・取得状況**

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。

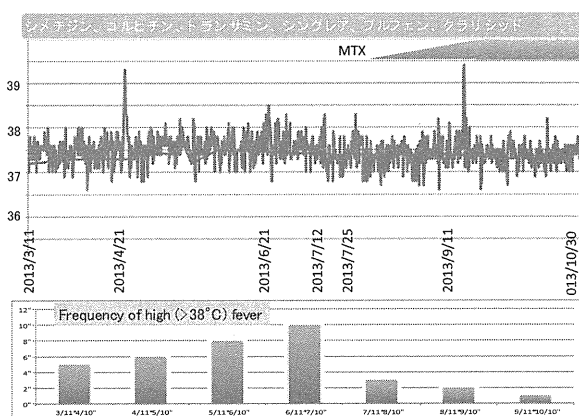


図 1 : 2005SS001における熱型と治療効果

厚生労働科学研究費助成金  
分担研究報告書

自己炎症疾患とその類縁疾患に関する新規診療基盤の確立に関する研究

X連鎖リンパ増殖症候群2型における炎症性腸疾患の合併に関する研究

分担研究者 金兼 弘和 富山大学附属病院小児科講師

研究要旨

当教室ではフローサイトメトリーと遺伝子解析を組み合わせてわが国における X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) の診断と病態解析を行っており、これまで XLP1 を 22 家系 36 例、XLP2 を 12 家系 21 例同定している。XLP1 と XLP2 の臨床的特徴として血球貪食性リンパ組織球症や低ガンマグロブリン血症は共通して認められるが、悪性リンパ腫は XLP1 に特徴的であり、XLP2 では脾腫、炎症性腸疾患 (IBD) を少なからず合併する。そこでわが国の XLP2 患者における IBD の合併を明らかにした。21 例中 8 例 (38%) で IBD を合併しており、従来の報告 (約 20%) より合併率が高かった。同じ遺伝子変異を有する同胞例でも IBD 合併例と非合併例もあり、遺伝子変異と IBD 発症には関係がないと思われた。免疫抑制剤のみでコントロール不良な症例には生物学的製剤が使用され、造血幹細胞移植を行った 1 例では移植後、IBD も改善した。

A. 研究目的

X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) は EB ウイルスに対する免疫応答の欠陥を有する稀な原発性免疫不全症であり、その原因遺伝子は同じ Xq25 領域に局在する *SH2D1A* ならびに *XIAP* である。*SH2D1A* ならびに *XIAP* による XLP をそれぞれ XLP1、XLP2 と呼称するが、疾患頻度は約 80%、20%とされている。XLP1 と XLP2 において血球貪食性リンパ組織球症ならびに低ガンマグロブリン血症は共通して認められる症状であるが、XLP1 に特徴的な症状として悪性リンパ腫があり、XLP2 に特徴的な症状として脾腫、炎症性腸疾患 (IBD) がある。IBD を合併することから XLP2 は自己炎症性疾患としての側面も有している。本研究

ではわが国の XLP2 における IBD の合併状況とその臨床的特徴を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

当教室ではフローサイトメトリーと遺伝子解析を組み合わせて XLP の診断を行っているが、これまで XLP1 を 22 家系 36 例、XLP2 を 12 家系 21 例同定している。XLP2 患者をフォローしている主治医に対して臨床症状ならびに治療方法についてアンケート調査を行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト検体を用いて解析を行うものであり、検体量および採取時の苦痛には十分な配慮を行った。遺伝子解析について

は各種指針を遵守して、患者個人情報の保護について十分な配慮を行った。

### C. 研究結果

22 例中 8 例 (38%) で IBD を合併していた。死亡例が 1 例あるが、他の 7 例は生存中である。XLP2 の診断前に IBD を発症していた症例が 5 例あり、XLP2 と診断後に IBD を合併した症例が 2 例であった。IBD を合併した 8 例中、家族歴を有する患者は 5 家系 6 例であった。治療方法について回答があった 6 例はすべてステロイド投与が行われているが、うち 4 例で Infliximab などの生物学的製剤が投与されていた。1 例は造血幹細胞移植が行われ、移植後は IBD の寛解を認めている。

### D. 考察

これまでの報告では XLP2 の約 20% で IBD を合併すると報告されていたが、わが国の XLP2 患者においては 38% で IBD を合併していた。わが国固有の遺伝的背景が IBD 発症に関与しているのかもしれない。また同じ遺伝子変異を有する同胞例においても IBD 発症例と非発症例があり、IBD の発症に XLP2 遺伝子変異そのものは関係ないのかもしれない。IBD の治療は基本的にはステロイドを始めとする免疫抑制剤であるが、ステロイド抵抗例では生物学的製剤が投与されていたが、大きな有害事象なく、IBD 孤発例と同様に生物学的製剤は有用な薬剤と考えられた。1 例だけであるが、造血幹細胞移植後に IBD の改善が認められ、難治性 IBD に対する造血幹細胞移植は有用な治療かもしれない。

### E. 結論

わが国の XLP2 ではこれまでの報告に比べて IBD の合併例が多く認められたが、遺

伝子変異と IBD 発症には関係が認められなかった。治療として免疫抑制剤に加えて、生物学的製剤も有用であり、造血幹細胞移植も有用な治療法となりうると考えられる。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Marsh RA., Rao K., Satwani P., Lehmberg K., Müller I., Li D., Kim MO., Fischer A., Latour S., Sedlacek P., Barlogis V., Hamamoto K., Kanegane H., Milanovich S., Margolis DA., Dimmock D., Casper J., Douglas DN., Amrolia PJ., Veys P., Kumar AR., Jordan MB., Bleesing JJ., and Filipovich AH.: Allogeneic hematopoietic cell transplantation for XIAP deficiency: an international survey reveals poor outcomes. *Blood* 121: 877-883, 2013.
- 2) Wada T., Kanegane H., Ohta K., Kato F., Imamura T., Nakazawa Y., Miyashita R., Hara J., Hamamoto K., Yang X., Filipovich AH., Marsh RA., and Yachie A.: Sustained elevation of serum interleukin-18 and its association with hemophagocytic lymphohistiocytosis in XIAP deficiency. *Cytokine* 65: 74-78, 2014.

#### 2. 学会発表

特になし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

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

「希少疾病に対する臨床試験の統計的デザインに関する研究」

研究分担者 名前 手良向 聡

所属 金沢大学附属病院 先端医療開発センター

研究要旨： 希少疾病に対する多くの臨床試験は2値エンドポイントを用いた単群試験である。この設定において、私たちはベイズ流適応的デザイン（予測標本サイズ選択デザイン、PSSD: predictive sample size selection design）およびその拡張版を提案した。このデザインは、無益性または安全性による試験の早期中止のための中間解析、標本サイズ選択を許容し、効率的かつ柔軟性の高いデザインとして特に探索的臨床試験において有用である。

A. 研究目的

本研究の目的は、2値エンドポイントを伴う探索的単群臨床試験において、効率的かつ柔軟性の高い臨床試験デザインを提供することである。

B. 研究方法

2種類の事前分布（デザイン事前分布、解析事前分布）を用いるベイズ流の方法により、試験開始前に標本サイズを決定する。その際、臨床的デザイン事前分布に加えて、懐疑的デザイン事前分布を用いて、2つの標本サイズ（ $N$ および $N_{max}$ ）を決定する。試験開始後、中間モニタリングを行い、効果発現確率が低い場合は早期中止を行い、必要に応じて標本サイズの選択（ $N$ または $N_{max}$ ）を行う。中間モニタリングおよび標本サイズの選択には、解析事前分布に基づくベイズ流予測確率を用いる。また、有効性に加えて安全性を同時に（より頻回に）モニタリングすることも可能である。

C. 研究結果

シミュレーション研究により、頻度論的な動作特性を確認したところ、多くの状況において、第I種、第II種の過誤確率をそれほど増大させることなく、期待標本サイズを減少させることが示された。また、安全性モニタリングを加えた拡張版デザインでは、検出力を大きく低下させることなく、有効性の劣る、または安全性に問題のある治療を早期に中止させることが可能であった。

D. 考察

提案したデザインは、標本サイズ決定における不確実性を考慮して、試験途中で標本サイズを見直すという適応型デザインである。今まで提案されたデザインにはない特長を有しており、効率的かつ柔軟性の高いデザインとして有用と考える。

E. 結論

今後、本デザインを実際の臨床試験に適用し、その有用性について実地で検証していく必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1. Teramukai S, Daimon T, Zohar S. A new design for phase II single-arm clinical trials: Bayesian predictive sample size selection design. Journal of Clinical Oncology 2013;31 (suppl; abstr 6576).
2. Teramukai S, Daimon T, Zohar S. An extension of Bayesian predictive sample size selection design for monitoring efficacy and safety in single-arm clinical trials. 34th Annual Conference of the International Society for Clinical Biostatistics (C28.2). 2013.8.28. Munich, German.
3. 手良向聡. 探索的臨床試験における標本サイズ再設定デザイン. 東京大学データ管理学講座シンポジウム(東京). 2013.5.10.
4. 手良向聡. 探索的臨床試験における臨床家との協同. 臨床薬理 2013;44(Suppl.):S165.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

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

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

周期性発熱症例における10遺伝子の網羅的遺伝子多型解析

研究分担者 川口鎮司 東京女子医科大学リウマチ科 臨床教授  
研究協力者 宮前多佳子 東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター 講師

研究要旨

周期性発熱を呈する原因不明の症例に対して、遺伝性の自己炎症性疾患に関連する遺伝子変異を検討し、本邦における遺伝性自己炎症性疾患の頻度を検討することを目的とした。対象症例は、40歳以下の日本人で、1年以内に2回以上の発熱の既往がありその原因が不明である症例とした。発熱は、38℃以上の弛張熱が3日間以上続くこととした。患者の末梢血より genomic DNA を抽出し、DNA シークエンサーにて下記の10種類の遺伝子を解析した。遺伝子は、*TNFRSF1A*, *MEFV*, *MVK*, *NLRP3*, *NOD2*, *NALP12*, *PSTPIP1*, *IL1RN*, *PSMB8*, *IL36RN*とした。連続的に周期性発熱患者202例を集めて解析したところ、INFEVERS に登録されている疾患関連遺伝子多型が116(57%)に認められた。*MEFV* 遺伝子変異が最も高頻度であった。本邦において、原因不明の発熱を繰り返す症例においては、遺伝性の自己炎症性疾患が含まれていることは明らかであり、今後、遺伝子検索を行い、鑑別していく必要があると考える。

A.研究目的

遺伝性自己炎症性疾患は、1999年にKastnerらにより提唱された疾患概念である。当初は、希少疾患と考えられていたが、家族性地中海熱を含めると欧州では稀でないことがわかってきた。一方、本邦においても、種々の検討が行われ、家族性地中海熱の家系が存在することが報告されるようになった。膠原病内科や小児科においては、原因不明の炎症を伴う発熱患者は鑑別疾患として紹介されることが多い。膠原病、感染症、悪性疾患が否定的となった症例の鑑別疾患として、自己炎症性疾患は重要である。しかし、現状では、遺伝子検索ができる施設は限定されている。我々の施設では、関節リウマチなどの膠原病の疾患感受性遺伝子の検索を行っており、遺伝子解析のシステムが整備されていた。そこで、本邦における原因不明の周期性発熱患者における既存の原因遺伝子検索でどの程度の原因遺伝子が抽出できるかを明らかにする目的で、遺伝子解析を行った。

B.研究方法

1)対象患者

対象症例は40歳以下の日本人とした。周期性発熱の定義は、1年間に2回以上、3日間以上続く38℃以上の弛張熱があることとした。血液検査にて炎症所見(CRP および赤沈の亢進)がみられない症例は除外した。当院での遺伝子検索に同意された連続的に集めた202症例を対象として解析を行った。genomic DNA は、患者末梢血から抽出した。本研究は、東京女子医科大学の倫理委員会にて承認を得ており、患者から文書にて同意得ている。患者が未成年者の場合は親権者の同意を得ることとしている。

2)遺伝子変異の検索

*TNFRSF1A*, *MEFV*, *MVK*, *NLRP3*, *NOD2*, *NALP12*, *PSTPIP1*, *IL1RN*, *PSMB8*, *IL36RN*の遺伝子に関して、特異的なプライマーを作成し、DNA シークエンサー(Applied Biosystems 3130XL)にて遺伝子配列を決定した。得られた患者の塩基配列情報をINFEVERS, NCBI dbSNP, UCSC, Ensemblのデータベースを用いて評価した。詳細な検討領域は、*TNFRSF1A*: exon 2 から exon 4、*MEFV*: exon 1 から exon 10 の coding 領域、*MVK*: exon 9 から exon 11 の coding 領域、*NLRP3*: exon 3、*NOD2*: exon 4、*NALP12*: exon 3 と exon 9、*PSTPIP1*: exon 10 から exon 11、*IL1RN*: exon 2、*PSMB8*: exon 2 と exon 3 と exon 5、*IL36RN*: exon 2 から exon 5 とした。

(倫理面への配慮)

東京女子医科大学の倫理委員会にて審議し、承認を得て行っており、患者からのDNA取得には、文書で同意を取得している。DNAは、匿名化番号を付記して、検査を行い、最後に、患者臨床データと連結を行っている。患者のデータの漏洩はない。

C.研究結果

40歳以下の日本人周期性発熱患者202例に関して、10遺伝子すべての解析を行った。116症例(57%)に解析した10遺伝子のいずれかの疾患関連遺伝子変異が認められた。予想されたように、*MEFV* 遺伝子の変異が最も多く、変異を認めた症例は104例であった(表1)。

表1 MEFV 遺伝子変異の頻度

Exon 1 (E84K)	1
---------------	---

Exon 2	(L110P)	20
	(E148Q)	73
	(R202Q)	12
	(G304R)	
Exon 3	(P369S)	22
	(R408Q)	21
Exon 5	(S503C)	9
Exon 10	(I591M)	1
	(M694I)	7

2)MEFV 遺伝子以外の遺伝子変異  
TNFRSF1A 7 例、MVK 2 例、NLRP3 5 例、NOD2 4 例、  
PSTPIP1 1 例を認めた。それぞれの詳細な遺伝子変異は、  
表 2 に示す。

表 2 稀な遺伝子変異

TNFRSF1A		
	C30R	1
	T50M	1
	T61I	5
MVK		
	G326R	1
	A334T	1
NLRP3		
	R135H	1
	E304K	1
	T348M	1
	L447F	1
	E690Q	1
NOD2		
	D382E	1
	R311W	1
	R471C	1
PSTPIP1		
	G258A	1

## D. 考察

原因不明の発熱症例は、不明熱という診断にて経過観察されることがある。また、関節炎がおきる症例では、関節リウマチと診断されることもある。診断不明で、腹痛を繰り返す小児では、通学が困難になる症例もいるのが現状である。今回、202 例の症例で遺伝子検索を網羅的に行った結果、多くの症例で疾患を同定できる可能性がみえてきた。診断ができて治療が困難な症例もあるが、クライオピリン関連周期性症候群 (CAPS) や家族性地中海熱では、新規治療方法が開発されてきている。今後、周期性発熱を呈する原因不明の症例では、遺伝性自己炎症性疾患を念頭におき、遺伝子解析をすることが、早期診断に有用であると考えられる。

## E. 結論

202 例の周期性発熱症例において、今回の 10 遺伝子解析を行えば、高率に遺伝子の変異が見つかる。遺伝性自己炎症性疾患の診断には有用と考える。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Inoue Y, Kawaguchi Y, Shimojo N, Yamaguchi K, Morita Y, Nakano T, Arima T, Tomiita M, Kohno Y. A case of infantile Takayasu arteritis with a D382E NOD2 mutation: an unusual phenotype of Blau syndrome/early-onset sarcoidosis. **Modern Rheumatol** 23:837-839, 2013

### 2. 学会発表

特になし

## H. 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