

家族性地中海熱遺伝子関連腸炎の診断法の確立並びに病態解明

研究分担者 仲瀬裕志 札幌医科大学消化器内科学講座 教授

研究要旨：インフラマソームの活性化異常は種々の疾患発症に関与し、その1つに家族性地中海熱 (Familial Mediterranean fever：以下 FMF) が存在する。FMF は周期性発熱と漿膜炎を特徴とする遺伝性炎症性疾患（責任遺伝子は familial Mediterranean fever gene：以下 MEFV）である。現在まで、FMF と腸管病変との関連についての研究は注目されていなかった。一方で、コルヒチン投与のみで寛解する IBD 様の腸管病変を有する MEFV 遺伝子関連腸炎症例が集積されつつある。今回、MEFV 関連腸炎の臨床的特徴と発症機序に関連する研究を行った。Tel-Hashomer criteria を満たす症例は約 30% 残り 70% は非典型例であった。このことから、いわゆる炎症性腸疾患と診断されてきた患者群の中に MEFV 遺伝子関連腸炎症例が存在することが示唆された。日本人に多く認められる Exon2 変異は TLR 反応性の違いを生じさせ、発症機序につながるものと考えられた。

共同研究者

平山大輔（札幌医科大学消化器内科学講座）

櫻井晃弘（札幌医科大学 遺伝医学）

久松理一（杏林大学第3内科）

松本主之（岩手医科大学消化器内科消化管分野）

江崎幹宏（九州大学大学院病態機能内科学第二内科）

国崎玲子（横浜市立大学附属市民総合医療センター 炎症性腸疾患センター）

松浦 稔（京都大学医学部附属病院内視鏡部）

大宮美香（関西医科大学内科学第3講座）

荒木寛司（岐阜大学医学部光学医療診療部）

渡辺憲治（兵庫医科大学腸管病態解析学）

田中浩紀（札幌厚生病院 IBD センター）

小林 拓（北里大学大学院医療系研究科炎症性腸疾患先進治療センター）

日比紀文（北里大学大学院医療系研究科炎症性腸疾患先進治療センター）

竹内 健（東邦大学医療センター佐倉病院 消化器内科学）

鈴木康夫（東邦大学医療センター佐倉病院 消化器内科学）

上野伸展（旭川医科大学病院第三内科）

大井秀久（いづろ今村病院消化器内科）

柿本一城（大阪医科大学第二内科）

細見周平（大阪市立大学医学部附属病院消化器内科）

新崎信一郎（大阪大学医学部附属病院消化器内科）

横山 薫（北里大学医学部消化器内科学）

山本真義（北野病院脳神経内科）

松野雄一（九州大学病院消化管内科）

細江直樹（慶應義塾大学病院内視鏡センター）

大井 充（神戸大学医学部附属病院消化器内科）

新井勝大（国立成育医療研究センター消化器内科）

都築義和（埼玉医科大学病院消化管内科）

安藤 朗（滋賀医科大学医学部附属病院消化器内科）

石川 大（順天堂大学医学部附属順天堂医院消化器内科）

長末智寛（製鉄記念八幡病院消化器内科）

櫻井俊之（東京慈恵会医科大学附属病院消化器・肝臓内科）

白木 学（東北労災病院胃腸内科）

酒見亮介（戸畑共立病院消化器病センター）

松田耕一郎（富山県立中央病院消化器内科）

南條宗八（富山大学附属病院 第三内科）
 吉川周作（土庫病院外科・大腸肛門病センター）
 中村正直（名古屋大学医学部附属病院消化器内科）
 小山文一（奈良県立医科大学消化器・総合外科）
 横山純二（新潟大学医歯学総合病院光学医療診療部）
 後藤田卓志（日本大学病院消化器内科）
 櫻庭裕丈（弘前大学大学院医学研究科消化器血液内科学講座）
 武田輝之（福岡大学筑紫病院消化器内科）
 大宮直木（藤田医科大学病院消化器内科）
 穂刈量太（防衛医科大学校病院消化器内科）
 吉田雄一郎（松山赤十字病院胃腸センター）
 荒木俊光（三重大学病院消化器外科）
 杉田 昭（横浜市立市民病院 炎症性腸疾患センター）

A. 研究目的

インフラマソームは、炎症性サイトカインの1つである IL-1 産生を制御する細胞内のタンパク質複合体である。インフラマソームの活性化異常は種々の疾患発症に関与し、その1つに家族性地中海熱(Familial Mediterranean fever：以下 FMF)が存在する。FMF は周期性発熱と漿膜炎を特徴とする遺伝性炎症性疾患（責任遺伝子は familial Mediterranean fever gene：以下 MEFV）である。日本人炎症性腸疾患 (IBD) 患者には、MEFV 遺伝子変異を有し、コルヒチンのみで寛解する MEFV 遺伝子関連腸炎群が存在する可能性が極めて高いと考えた。本研究では、増加しつつある IBD 患者群から本疾患を見出すため、MEFV 遺伝子関連腸炎の診断法の確立を目指す。

B. 研究方法

1. 対象 潰瘍性大腸炎/クローン病患者との診断がつかない分類不能腸炎 (IBDU) 患者。
2. 基本デザイン 観察的研究
3. 目標症例数 300 症例

4. 評価項目

- (a) 分類不能腸炎患者の MEFV 遺伝子解析
- (b) 分類不能腸炎患者の臨床情報の集積

b-1 臨床所見

b-2 小腸・大腸内視鏡所見/生検組織所見

- (c) FMF 関連腸炎患者の腸内細菌叢解析

5. MEFV 遺伝子関連腸炎の発症機序の解明

MEFV 遺伝子変異を導入したプラスミドを作製し、293T 細胞に transfection することで、NLRP3 を含めた inflammasome 経路の免疫反応に関する基礎的な検討を行った。

（倫理面への配慮）本研究を行うにあたっては、『ヘルンシキ宣言(2013年改訂)』『人を対象とする医学研究に関する倫理指針（平成29年2月28日一部改定）』に従う。本研究で収集した全ての対象者の遺伝情報の匿名化は札幌医科大学消化器内科学講座で実施する。匿名化については、札幌医科大学医学部の規定に沿って行い、個人情報、遺伝子解析研究を行う前に、札幌医科大学消化器内科学講座において研究対象者の氏名、生年月日等、すなわち、個人を特定することができる情報を除去する。また、連結可能匿名化においては、対応表を個人情報管理者の下で厳重に保管する

C. 研究結果

1. MEFV 遺伝子関連腸炎の臨床特徴を明らかにする目的で、内視鏡所見を始めとした臨床情報・遺伝子解析データを集積した (UMIN 登録 ID 000022289)。現在、登録された患者数は 74 症例。平均年齢は 38 歳、男女比は 2:3。厚生労働省研究班の FMF 診断基準に合致する典型例は約 30%。残りの約 70% は非典型例、あるいは FMF 症状を有さない症例であった。腹痛、下痢、下血といった腹部症状はほぼ有しており、関節炎症状は 35% の患者に認められた。また、全消化管に消化管病変が存在し、中でも、空腸 (約 60%) や大腸 (約 80%) に病変が多く認められた。

2. MEFV 遺伝子関連消化管病変の所見 上部消化管

(食道・胃・十二指腸)には、認められる所見はアフタ、びらんが約23%、潰瘍性病変は約14%に認められた。小腸では、アフタ、びらんが約32%、潰瘍性病変は約32%、縦走潰瘍は約8%に認められた。大腸内視鏡検査所見(I)潰瘍性大腸炎様の全周性粘膜所見を呈する傾向が約半数以上(71%)にみとめられるが、しばしば直腸病変を伴わない。(II)偽ポリポーシス所見(III)クローン病のような縦走潰瘍病変(14%)並びに狭窄例(9.7%)も存在することが明らかとなった。

3. Exon2の変異pyrin domainを発現するプラスミドを作製、293細胞に導入した。その結果、E148Q、L110Pのアミノ酸置換を生じるExon2の変異が導入された293T細胞では、コントロールに比し、LPS刺激後のIL-1 β 、TNF- α の発現増強が確認された。

D. 考察

今回の検討結果から、MEFV遺伝子関連腸炎では、Tel-Hashomer criteriaを満たす症例は約1/3、残り2/3は非典型例であった。非典型例の症状は、潰瘍性大腸炎・クローン病にでも認められるものである。このことから、いわゆるIBDと診断されてきた患者群の中にMEFV遺伝子関連腸炎症例が存在することが示唆された。FMFは常染色体劣性遺伝形式をとるとされてきたが、その発症機序は未だ不明な点が多い。その理由として、ピリン欠損マウスでは全身炎症の誘導が認められない、さらにheterozygous変異での発症が多いことが挙げられる。また、地中海領域に住む患者ではExon10の変異がほとんどであるが、日本ではExon2変異を有する患者が大部分を占める(70%以上)。Exon10での変異は、C-terminal domainに存在するB30.2の機能に影響を及ぼし、その結果Caspase-1活性化が生じ、成熟型IL-1 β の産生に繋がることが報告されている。一方で、Exon2変異に伴うアミノ酸置換がFMF発症におよぼす機序は未だに明らかとなっていない。Exon1およびExon2はN-terminal domain

であるPyrinをコードする領域である。Pyrinはcaspase-1により330番目のアスパラギン酸で切断され、IL-1 β degradationの誘導、NF- κ Bを活性化することが報告された。そこで、Exon2の変異pyrin domainを発現するプラスミドを作製、293T細胞に導入した。その結果、日本人で変異の頻度が高いE148Q、L110Pのアミノ酸置換を生じるExon2の変異が導入された細胞では、IL-1 β 、TNF- α の発現増強が確認された。Exon2変異によるアミノ酸置換を伴うピリン蛋白は炎症性サイトカインならびにNLRP3発現を誘導すること、患者の腸内細菌叢変化はMEFV遺伝子関連腸炎発症に関与する可能性が高く、さらなる発症機序解明に現在取り組んでいる。

E. 結論

MEFV遺伝子関連腸炎の臨床的特徴、及び発症機序に関する研究成果をまとめた。さらなる研究を積み重ねることにより、本疾患診断基準作成ならびに発症機序の解明につなげていきたい。

尚、本研究内容は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構の支援を受け、現在も継続中である。(研究開発課題名 家族性地中海熱関連腸炎の診断法確立と病態解明を目指す研究 課題番号 19188015)

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Saito D, Hibi N, Ozaki R, Kikuchi O, Sato T, Tokunaga S, Minowa S, Ikezaki O, Mitsui T, Miura M, Sakuraba A, Hayashida M, Miyoshi J, Matsuura M, Nakase H, Hisamatsu T. MEFV gene-related enterocolitis account for some cases diagnosed as inflammatory bowel disease

unclassified. Digestion.6: 1-9, 2019.

2. 仲瀬裕志 腸管ペーチェット病の鑑別疾患
家族性地中海熱関連腸炎. INTESTINE.

23:513-518, 2019.

3. 仲瀬裕志, 平山大輔, 我妻康平, 風間友江, 横山佳浩. MEFV 遺伝子異常に関連する消化管病変. 胃と腸. 54:1715-1722, 2019.

4. 仲瀬裕志 家族性地中海熱遺伝子関連の消化管病変. Gastroenterol Endosc. 61:2455-2465, 2019.

5. 仲瀬裕志 家族性地中海熱遺伝子関連腸炎. 医学のあゆみ. 270:354-356, 2019,

2. 学会発表

横山佳浩, 飯田智哉, 風間友江, 平山大輔, 我妻康平, 山野泰穂, 仲瀬裕志. 回腸末端炎による狭窄に対して内視鏡的バルーン拡張術を施行した MEFV 遺伝子関連腸炎の 1 例. 第 57 回日本小腸学会学術集会 大阪 2019 年 11 月 9 日

具 潤亜, 星 奈美子, 大井 充, 竹中春香, 徳永英里, 宮崎はるか, 明本由衣, 櫻庭裕丈, 飯田智哉, 仲瀬裕志, 児玉裕三 クロウン病との鑑別を要した家族性地中海熱の 1 例. 第 57 回日本小腸学会学術集会. 大阪. 2019 年 11 月 9 日

横山佳浩, 飯田智哉, 風間友江, 平山大輔, 我妻康平, 山野泰穂, 仲瀬裕志. 回腸末端炎を呈しクローン病との鑑別を要した MEFV 遺伝子関連腸炎の 1 例. 第 47 回日本臨床免疫学会総会. 札幌. 2019 年 10 月 17-19 日.

仲瀬裕志. 炎症性腸疾患鑑別診断としての家族性地中海熱遺伝子関連腸炎. 第 47 回日本臨床免疫学会総会. 札幌. 2019 年 10 月 17-19 日.

齋藤大祐, 日比則孝, 尾崎 良, 菊地翁輝, 佐藤太龍, 徳永創太郎, 箕輪慎太郎, 池崎修, 三井達也, 三浦みき, 櫻庭彰人, 林田真理, 仲瀬裕志, 久松理一. コルヒチンが有効な MEFV 遺伝子関連腸炎が IBDU に紛れている. 第 56 回日本消化器免疫学会総. 京都.

2019 年 8 月 1-2 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

本研究に関するものはなし。