

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分類の
標準化とエビデンスに基づいた診療ガイドラインの策定に関する研究

平成 27・28 年度 総合研究報告書

研究代表者 森 雅 亮

平成 29 (2017) 年 3 月

目 次

I	構成員名簿	1
II	総括研究報告	3
	若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定に関する研究	
	研究代表者 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 生涯免疫難病学講座 教授 森 雅亮	
III	分担研究報告	
	1. 若年性特発性関節炎(JIA)の診療ガイドライン作成に関する研究	13
	大阪医科大学大学院医学科小児科学 助教 岡本 奈美	
	2. 小児 SLE の診療の手引きの作成に関する研究	34
	鹿児島大学医学部保健学科 教授 武井 修治	
	3. 若年性皮膚筋炎(JDM)の診療ガイドライン作成に関する研究	45
	北海道大学大学院医学研究科生殖発達医学分野小児科学 客員教授 小林 一郎	
	4. 小児期 Sjögren 症候群の診断基準・重症度分類の標準化と診療ガイドライン策定に関する研究	51
	千葉県こども病院アレルギー・膠原病科 部長 富板 美奈子	
	5. 小児期発症難治性血管炎症候群の診療ガイドライン作成に関する研究	55
	愛媛大学大学院医学系研究科分子・機能領域小児科学講座 助教 中野 直子	
IV	研究成果の刊行に関する一覧表	59
V	研究成果刊行物・別冊	63

I . 構成員名簿

若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定に関する研究班

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	森 雅亮	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生涯免疫難病学講座	教授
研究分担者	伊藤 保彦	日本医科大学大学院医学研究科小児・思春期医学	大学院教授
	岡本 奈美	大阪医科大学大学院医学研究科泌尿生殖・発達医学講座小児科/大阪医科大学付属病院難病総合センター	助教/副センター長
	小林 一郎	北海道大学大学院医学研究科医学専攻生殖・発達医学講座小児科学分野/KKR札幌医療センター小児・アレルギーリウマチセンター	客員教授/センター長
	武井 修治	鹿児島大学医学部保健学科看護学専攻母性・小児看護学講座	教授
	富板美奈子	千葉県こども病院アレルギー・膠原病科	部長
研究協力者	秋岡 親司	京都府立医科大学大学院医学研究科小児科学/附属病院小児科	講師
	五十嵐 徹	日本医科大学大学院医学研究科小児・思春期医学	講師
	井上祐三朗	東千葉メディカルセンター小児科	副部長
	岩田 直美	あいち小児保健医療総合センター感染症・予防診療科	医長
	梅林 宏明	宮城県立こども病院総合診療科	部長
	江川 祥子	北海道薬科大学薬学部基礎薬学系生命科学分野	教授
	大倉 有加	KKR札幌医療センター小児・アレルギーリウマチセンター	医長
	越智 史博	愛媛大学大学院医学系研究科分子・機能領域寄付講座小児科	講師
	金兼 弘和	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野（小児科）	准教授
	金城 紀子	琉球大学大学院医学研究科育成医学（小児科）	助教
	久保田知洋	鹿児島大学病院小児科	医員
	小林 法元	信州大学医学部附属病院小児科	講師
	笹原 洋二	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野	准教授
	佐藤 智	埼玉県立小児医療センター感染症・アレルギー科	医長
	清水 正樹	金沢大学医薬保健研究域医学系小児科	助教
	謝花 幸祐	大阪医科大学大学院医学研究科泌尿生殖・発達医学講座小児科	臨床研修専任指導医
	竹崎俊一郎	北海道大学病院小児科	医員
	田中絵里子	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野（小児科）	助教
	中岸 保夫	兵庫県立こども病院リウマチ科	医長
	中野 直子	愛媛大学大学院医学系研究科分子・機能領域小児科学講座	助教
	西田 豊	群馬大学大学院医学系研究科小児科	大学院生
	西村 謙一	横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学	助教
	西本 憲弘	大阪リウマチ・膠原病クリニック/東京医科大学医学総合研究所難病分子制御学部門	院長/兼任教授
	野澤 智	横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学	助教
	野中由希子	鹿児島大学病院小児科	医員
	原 良紀	横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学	助教
	松井 利浩	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生涯免疫難病学講座	准教授
	水田 麻雄	金沢大学医薬保健研究域医学系小児科	診療従事者
	八代 将登	岡山大学病院小児科	助教
	八角 高裕	京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学	講師
	安村 純子	広島大学大学院医歯薬保健学研究科小児科学	クリニカルスタッフ
	山口 賢一	聖路加国際病院 Immuno-Rheumatology Center	医長
	山崎 和子	埼玉医科大学総合医療センター小児科	講師
山崎 雄一	鹿児島大学病院小児科	助教	
脇口 宏之	山口大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学講座	助教	

Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）
研究課題：若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・
重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定
に関する研究（課題番号：H27-難治等(難)一般-029）

研究代表者：東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生涯免疫難病学講座 教授 森 雅亮

研究要旨

小児期のリウマチ・膠原病は、現代でも**不治の病**とされ、発病の機構が明らかでない、治療方法が未確立、希少な疾病、長期の療養を必要とする、の4要素を満たす難病である。リウマチ・膠原病の病態は自己炎症・自己免疫を基盤とする全身性炎症性疾患で、炎症学、リウマチ学の著しい進歩に支えられ**診断技術、治療薬・治療法は目覚ましく進歩**したため、炎症病態は**早期診断・早期治療介入の原則**さえ貫けば臓器障害を成人期まで持ち越すことなく良好な予後を期待できる。しかし未だ**標準的な診断・治療ガイドラインが存在しない**ことから、依然として**大量ステロイドの長期投与等不適切な治療**が行われ積極的な**抗炎症治療、免疫抑制療法**が導入されていないのが現状である。加えて、個々の疾患には死に直結、或いは日常生活を大きく障害する**難治性病態**が存在する。若年性特発性関節炎（JIA）の**マクロファージ活性化症候群**、全身性エリテマトーデス（SLE）の**中枢神経ループス**、若年性皮膚筋炎（JDM）の**急速進行性間質性肺炎(ARDS)**、シェーグレン症候群(SS)の**慢性疲労及び腺外臓器障害**等であるが、その**難治性病態**を早期に規定する**重症度分類**も未だ策定されていない。

本研究では、まず小児リウマチ性疾患の中で発症頻度が高いリウマチ・膠原病（JIA, SLE, JDM, SS）及びしばしば難治性病態を呈する血管炎症候群（川崎病、IgA 血管炎を除く）において全国での患者数把握を行い、全国各地で地域別に患者および保護者を庇護する小児リウマチ診療ネットワークの構築を図った。同時に、前4者での**診断・治療ガイドライン**を2年間にわたって策定し、関連学会である日本リウマチ学会、日本小児リウマチ学会と本研究のプロダクトを共有する道筋を示すことが出来たと考えている。

研究分担者 武井 修治 鹿児島大学医学部保健学科看護学専攻母性・小児看護学 教授
伊藤 保彦 日本医科大学大学院医学研究科小児・思春期医学 教授
小林 一郎 北海道大学大学院医学研究科生殖発達医学分野小児科学 客員教授
富板美奈子 千葉県こども病院アレルギー・膠原病科 部長
岡本 奈美 大阪医科大学大学院医学科小児科学 助教

A. 研究目的

本研究では、小児リウマチ性疾患の中で発症頻度が高いリウマチ・膠原病の特に難治性病態（若年性特発性関節炎（JIA）の**マクロファージ活性化症候群**、全身性エリテマトーデス（SLE）の**中枢神経ループス**、若年性皮膚筋炎（JDM）の**急速進行性間質性肺炎(ARDS)**、シェーグレン症候群(SS)の**慢性疲労及び腺外臓器障害**等を中心に**診断・治療ガイドライン**を策定する。それに基づき、関連学会である日本リウマチ学会、日本小児リウマチ学会と本研究のプロダクトを共有し連携体制を密接に取り、患者および保護者を庇護する医療的ネットワークの構築を図ることを目的としている。

B. 研究方法

- (1) 小児リウマチ性疾患の中で発症頻度が高いリウマチ・膠原病（JIA,SLE,JDM,SS）及びしばしば難治性病態を呈する血管炎症候群（川崎病、IgA 血管炎を除く）において全国での患者数を把握し、最終的に小児リウマチ診療ネットワークの構築を目指す。
- (2) JIA, SLE, JDM, SS の疾患毎に分担班を作成し、各班にて**診断基準・重症度診断・治療ガイドライン（診療の手引き）**を策定し、その有用性を実証する基盤となりうる諸研究（後述）を実施していく。
- (3) 小児リウマチ・膠原病疾患のうち、難治性病態を呈しやすい血管炎症候群（川崎病、血管炎症候群を除く）の全国的な疫学調査を行い、本邦における実態把握を行う。

（倫理面への配慮）

(1) 「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則して、研究を行う。研究内容は、研究代表者および分担研究者の施設での倫理審査の

承認後、診療録の後方視学的解析および患者あるいは保護者の同意済の保存血清を使用する。各施設で貼付するポスターに記載する等して倫理的配慮を行っていく。

(2) 個人情報の保護に関する法律（平成15年5月法律第57号）第50条の規定に沿い、得られた患者の情報は外部に一切漏れないように厳重に管理した。研究結果の公表に際しては、個人の特定が不可能であるよう配慮した。

C. 研究結果

(1) JIA, SLE, JDM, SS 及び血管炎症候群（川崎病、IgA 血管炎を除く）の全国患者数実数調査による患者数の把握と小児リウマチ診療ネットワークの構築：

- ・ 日本小児科学会専門医認定施設を対象にした**小児期および成人移行期の小児リウマチ性疾患（JIA, SLE, JDM, SS, 血管炎症候群（結節性多発動脈炎、高安病）患者の全国実態調査**を施行し（表1）、16歳未満あるいは16歳以上の患者実数を全国的に把握し得た。最終的な回答率は**91.3%**と極めて高い回答が全国規模で得られたため、これまでおこなった疫学調査の中でも極めて正確性が高い調査結果であると考えられる（表2,3）。このうち、本研究班の代表・分担・協力施設での診療患者数は全体の30~40%を占めており、特にJIAについては16歳未満49.6%、16歳以上58.5%とより高い割合を示していた（表4）。この結果を鑑みて、代表的疾患であるJIAを年齢にかかわらず10例以上診療している施設は、全国で50施設強となり、概して各県に1施設が小児リウマチ中核病院として機能することで、全国津々浦々においてその地域特有の小児リウマチ診療ネットワークが構築できる可能性が強く示唆された。

(2) JIA, SLE, JDM, SS 分担班による診断基準・重症

度診断・治療ガイドライン（診療の手引き）の策定と、その有用性を実証する基盤となりうる諸研究を実施した（以下、成果は各分担班報告書を参照していただきたい）。

①JIA 班（班長：大阪医科大学 岡本奈美 分担研究者）

・JIAについては、診断基準・重症度分類・診療の手引きについては昨年度既に纏め終わっており、現在日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会が共同編集し「若年性特発性関節炎診療ハンドブック2007」を近々刊行する。

- 1) JIA 全体の疫学調査
- 2) マクロファージ活性化症候群(MAS)の実態調査に基づいた病期別分類と 2016 年改訂 MAS 分類基準の validation
- 3) ぶどう膜炎の実態調査
- 4) MTX-PG 血中濃度の解析

②SLE班（班長：鹿児島大学 武井修治 分担研究者）

- 1) 診断基準・重症度分類を網羅した包括的な診療ガイドライン「小児 SLE 診療の手引き」の完成
- 2) その後の検証によるガイドラインの見直しの検討

③JDM 班（班長：北海道大学 小林一郎 分担研究者）

- 1) 診断基準・重症度分類を網羅した包括的な診療ガイドライン「JDM 診療の手引き」の完成
- 2) 新たな IMCCP 基準の国内小児例を対象とした validation
- 3) 間質性肺炎合併例における予後因子の検討
- 4) 筋炎特異的自己抗体による JDM の細分類の提案と準備、

④SS 班（班長：千葉県こども病院 富板美奈子 分担研究者）

- 1) 診断基準・重症度分類を網羅した包括的な診療ガイドライン「SS 診療の手引き」の完成
- 2) 小児期 Sjögren 症候群診断の手引き」の診断

感度の解析

3) ESSDAI を用いた小児期 SS 患者の重症度評価

(3) 血管炎症候群 (川崎病、血管炎症候群を除く) の全国的な疫学調査による、本邦での実態把握

・本年度は、小児期発症高安動脈炎と結節性多発動脈炎を主に全国施設において詳細調査を行った。

- 1) 小児期発症高安動脈炎の疫学調査（病態、治療の実際、合併症、後遺症）
- 2) 小児期発症結節性多発動脈炎およびその他の血管炎症候群の疫学調査

D. 評価

1) 達成度について

本研究の最終目標とした難治性病態を兼ねた各疾患 (JIA, SLE, JDM, SS) の診断・治療の手引きは完成した。既に JIA については、関連学会 (日本リウマチ学会、小児リウマチ学会) の承認を得、発刊準備を進めている。その他の 3 疾患については、一定のパブリックコメント期間を経て、その後関連学会の承認を得たうえで公表する予定である。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

小児リウマチ・膠原病の難治性病態を網羅した診療の手引きの策定は、本邦では初めての試みであった。今後、現場からの評価を参考に、手引きの改訂を行っていくことが重要であるが、世界に類をみない小児リウマチ・膠原病の難治性病態を網羅した診療の手引きを国内外に提示することが出来るようになった意義は大きい。また、小児リウマチ・膠原病の全国調査によって得られた患者実数データや全国の診療機関を把握できて、その地域に特化した診療ネットワ

ークの構築が可能になった社会的意義は計り知れない。

3) 今後の展望について

診断・治療のガイドライン作成と普及により、リウマチ・膠原病診療の一般医と専門医の診療の分業体制が進む。難治例は専門医の医療に集約化され、子どもたちの医療・福祉の向上につながる。政策的には、診断・治療のガイドラインを「難病指定」などに活用でき、治療の標準化は医療費請求の客観化につながるよう働きかけたい。加えて、診療ネットワークを駆使して、成人リウマチ医との連携、保護者の会との密接な関係を築くことが大いに期待できる。また、本年度から開始した小児期発症血管炎症候群（川崎病、血管炎症候群を除く）のガイドラインの策定については、来年度別の研究班で引き続き取り上げていただき、今回の研究成果を適宜提供し共同の成果として公表したいと考えている。

4) 研究内容の効率性について

今回分担任で掲げた研究内容をもとに、文献検索で蓄積されたデータを駆使して、各疾患の難病性病態の診断・治療ガイドラインを作成し、今後の病態解明に役立てることができたという点で、効率性も高い。また、構築した診療ネットワークも高い効率性を発揮すると確信している。

E. 結論

本研究の最終目標は、小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態に対する診断・治療のガイドライン作成である。平成27・28年度の2年間において、小児リウマチ性疾患の代表的位置を示すJIA, SLE, JDM, SSにおいて各々の**診断・治療ガイドライン（診療の手引き）**策定を行うためロードマップとマイルストーンを具体的に明示し、

着々と完成に迫り着くことができた。来年度以降は、成人班と協同で、小児—移行期—成人に通じる診断基準・重症度分類・診断および治療ガイドラインの策定を目指していきたい。1)小児難治例の診断・治療に関わる問題点の把握と改善、2)文献検索システムによる世界的な希少難治性病態症例の収集と検討、3)炎症病態の基礎的検討からの治療法評価などは、新研究班で継続して研究していくべき課題である。今回の研究班での研究成果により各難治性病態の新たな治療戦略が構築でき、その普及を図っていくことができれば、本研究班の意義は十分に発揮されることになるだろう。

F. 研究発表

1) 国内

<論文>

- ・森 雅亮. 全身性エリテマトーデス. VIII. リウマチ性疾患とその周辺疾患. 小児内科 47 (増刊) 856-862, 2016.
- ・森 雅亮. 若年性特発性関節炎. 小児慢性疾患の成人期移行の現状と問題点. 小児科臨床 69:661-667, 2016.
- ・森 雅亮. 若年性特発性関節炎(JIA)初期診療の手引き【第1回】定義・病態と診断. Salvus 4-5, 2016.
- ・森 雅亮. これって肝臓病? トランスアミンナーゼと病態 自己免疫疾患. 小児内科 48:860-864, 2016.
- ・森 雅亮. 自己免疫疾患-Preclinical Stateから発症・早期診断まで- 小児リウマチ性疾患. 医学のあゆみ 258: 990-998, 2016
- ・森 雅亮. 慢性疾患児に一生を診る- 若年性特発性関節炎（全身型）. 小児内科 48: 1658-1661,2016
- ・岡本奈美、岩田直美、梅林宏明、大倉有加、金城紀子、国島知子、久保田知洋、清水正樹、野澤 智、安村純子、森 雅亮、武井修治、横田俊平. 「若年性特発性関節炎初期診療の

手引き」改定のためのアンケート調査結果の検討. 小児リウマチ 7:5-13,2016.

- ・森 雅亮. 若年性特発性関節炎. リウマチ病学テキスト 改訂第2版. pp137-141. 日本リウマチ財団教育研修員会・日本リウマチ学会生涯教育委員会 編集. 診断と治療社. (東京). 2016. 1
 - ・森 雅亮. 若年性特発性関節炎. 11. 免疫・膠原病. 小児科診療ガイドラインー最新の診療指針ー第3版. Pp534-540. 総合医学社 (東京). 2016. 3
 - ・森 雅亮. 疾病別で学ぶ自己注射使用の現状と使いやすさの向上. 第13節 若年性特発性関節炎. 自己注射に対する医師・患者ニーズと製品開発への落とし込み. pp88-96. 技術情報協会 (東京). 2016. 3
 - ・森 雅亮. 膠原病・リウマチ・アレルギー疾患を診療する. 若年性特発性関節炎 (JIA). Pp308-314. 膠原病・リウマチ・アレルギー 研修ノート (東京). 2016. 4.
- <発表>
- ・森 雅亮. 小児におけるバイオ医薬品等の開発および早期実用化に向けた取り組み. 第60回日本リウマチ学会学術集会. 2016. 4. 横浜
 - ・森 雅亮. 難治性移行期若年性特発性関節炎患者におけるセルトリズマブペゴルの使用経験. 第44回日本臨床免疫学会総会. 2016. 9. 東京
 - ・森 雅亮. 『川崎病急性期治療の夜明け: インフリキシマブ療法』 既存治療で効果不十分な急性期川崎病に対するインフリキシマブの臨床試験の概要. <シンポジウム> 第36回日本川崎病学会・学術集会. 2016. 9. 横浜
 - ・森 雅亮. ドラッグ・リポジショニングが変える膠原病リウマチ性疾患治療. 既存治療で効果不十分な腸管型・神経型・血管型ベーチェット病および急性期川崎病に対して追加適応を取得したインフリキシマブ. <シンポジウム> 第31回日本臨床リウマチ学会. 2016. 9. 東京
 - ・森 雅亮. JIA 研修会-エタネルセプト-. 第25

回日本小児リウマチ学会総会・学術集会. 2016. 10. 千葉

- ・森 雅亮. 血漿交換療法を要する、免疫グロブリン大量点滴静注療法不応川崎病の冠動脈障害危険因子の検討. 第37回日本アフェレンス学会学術大会. 2016. 11. 東京
- ・森 雅亮. 小児用医薬品の開発開始時期を考える. 小児におけるバイオ医薬品等の開発. PMDA 小児ワークショップ. 2016. 11. 東京

2) 国外

- ・ Kanetaka T, Mori M, Nishimura K, Nozawa T, Kikuchi M, Sakurai N, Hara R, Yamazaki K, Yokota S.. Characteristics of FDG-PET findings in the diagnosis of systemic juvenile idiopathic arthritis. Mod Rheumatol 26:362-7,2016.
 - ・ Yokoyama K, Mori M, Yoshida A. Mycophenolate mofetil therapy for two cases of antiphospholipid antibody-associated chorea. Mod Rheumatol. 2016 Feb 16:1-3. [Epub ahead of print]
 - ・ Nozawa T, Mori M, Nishimura K, Sakurai N, Kikuchi M, Hara R, Yokota S. Usefulness of two interferon- γ release assays for rheumatic disease. Pediatr Int. 58:347-52,2016
 - ・ Hisa K, Yanagimachi MD, Naruto T, Miyamae T, Kikuchi M, Hara R, Imagawa T, Yokota S, Mori M. PADI4 and the HLA-DRB1 shared epitope in juvenile idiopathic arthritis. PLoS One. 2017 Feb 9;12(2):e0171961.
 - ・ Hara R, Miyazawa H, Nishimura K, Momoi T, Nozawa T, Kikuchi M, Sakurai N, Kizawa T, Shimamura S, Yasuda S, Hiromura K, Sada K, Kawaguchi Y, Tamura N, Takei S, Takasaki Y, Atsumi T, Mori M. A national survey on current use of mycophenolate mofetil for childhood-onset systemic lupus erythematosus in Japan. Mod Rheumatol 25(6):858-864,2015.
- G. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)
- 1) 特許取得、2) 実用新案登録とも、該当なし。

表1. 全国調査依頼文書と回答用紙

日本小児科学会専門医研修施設 殿

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
 「若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分類の標準化とエビデンスに基づいた診療ガイドラインの策定に関する研究」(森班患者実数アンケート調査ご協力のお願い)

拝啓

時下、ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。

私どもは平成27年度より、上記研究班を立ち上げ、小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分類の標準化と診療ガイドラインの策定についての研究を遂行する事になりました。小児期発症リウマチ性疾患患者の現状を把握し、治療内容、合併症の内容、経過と予後を検討することにより、より良い小児リウマチ性疾患診療を提供することを目的としています。

現在、それぞれの日本小児科学会専門医研修施設にて御診療して頂いております小児リウマチ性疾患患者の実数についてお伺いいたく存じます。つきましてはお忙しいと存じますが、添付の一次調査アンケートにご回答いただき、**7月15日までに往復葉書にてご回答いただければ幸いです。**

尚、一次調査にて小児リウマチ性疾患患者を御診療されている御施設には、後日二次調査のご協力もお願い申し上げます。

お忙しいところを恐縮ですが、何とぞよろしくお願い申し上げます。

末筆ながら、貴施設のますますのご発展を祈念いたします。

敬具

平成28年5月吉日

「若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分類の標準化とエビデンスに基づいた診療ガイドラインの策定に関する研究」
 研究代表者：森 雅亮（東京医科歯科大学 生涯免疫難病学講座教授）
 〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-4 5
 東京医科歯科大学 生涯免疫難病学講座

御施設名：_____

記入者：_____

連絡先 TEL または e-mail: _____

平成28年4月1日の時点で貴院で経過観察されています小児期発症（16歳未満で発症した患者）のリウマチ性疾患の患者数についてお答え下さい。

1. 若年性特発性関節炎（JIA）の症例（あり・なし）
 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）

2. 小児期発症の全身性エリテマトーデス（SLE）の症例（あり・なし）
 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）

3. 若年性皮膚筋炎（JDM）の症例（あり・なし）
 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）

4. 小児期発症のシェーグレン症候群の症例（あり・なし）
 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）

5. 血管炎症候群（川崎病・シェーンラインヘノッフ症候群を除く）の症例（あり・なし）
 結節性多発動脈炎 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）
 大動脈炎症候群 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）
 その他 ①16歳未満 約（ 名） ②16歳以上 約（ 名）

ご協力どうもありがとうございました。

表2. 全国調査結果と回収結果

回収率 91.32%

(474 施設/519 施設、症例有り 275・症例なし 199)

1. 若年性特発性関節炎 (JIA) の症例

①16 歳未満 1,704 名、 ②16 歳以上 750 名

2. 小児期発症の全身性エリテマトーデス(SLE) の症例

①16 歳未満 404 名、 ②16 歳以上 525 名

3. 若年性皮膚筋炎 (JDM) の症例

①16 歳未満 268 名、 ②16 歳以上 113 名

4. 小児期発症のシェーグレン症候群の症例

①16 歳未満 148 名、 ②16 歳以上 126 名

5. 血管炎症候群(川崎病・シェーンラインヘノッフ症候群を除く)の症例

結節性多発動脈炎 ①16 歳未満 14 名 ②16 歳以上 19 名

大動脈炎症候群 ①16 歳未満 70 名 ②16 歳以上 70 名

その他 ①16 歳未満 58 名 ②16 歳以上 40 名

表3. 都道府県別小児リウマチ・膠原病患者数

		若年性特発性関節炎		SLE		皮膚筋炎		シェーグレン症候群		結節性多発動脈炎		高安病		他の血管炎	
		16歳未満	16歳以上	16歳未満	16歳以上	16歳未満	16歳以上	16歳未満	16歳以上	16歳未満	16歳以上	16歳未満	16歳以上	16歳未満	16歳以上
北海道・東北	北海道	69	25	16	10	14	2	16	5	1	1	2	6	3	1
	青森	8	4	4	10	2	1	0	0	0	1	1	0	0	0
	岩手	3	4	1	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0
	宮城	31	15	12	13	5	3	2	0	0	1	3	3	1	0
	秋田	14	13	8	6	3	0	1	2	0	0	3	0	1	1
	山形	6	8	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	0	0
	福島	17	6	5	11	3	2	0	0	0	0	0	0	2	0
関東	茨城	23	6	9	9	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
	栃木	46	13	8	5	3	0	0	2	0	3	1	1	1	0
	群馬	30	17	8	1	5	0	1	3	0	0	1	0	0	0
	埼玉	94	40	14	18	7	14	5	3	0	0	5	7	9	9
	千葉	82	28	15	19	6	4	13	6	2	0	2	1	0	1
	東京	194	103	58	80	33	9	25	29	0	1	10	6	10	6
	神奈川	120	100	17	88	18	28	9	12	1	1	6	17	7	1
中部	新潟	41	10	15	9	7	1	0	2	0	1	1	2	1	2
	富山	5	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	石川	26	17	4	10	2	0	3	1	1	0	0	3	0	2
	福井	6	2	4	1	1	0	1	1	0	0	1	1	0	0
	山梨	4	1	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	長野	12	11	6	9	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	岐阜	17	6	1	7	4	1	1	0	0	0	1	0	0	0
	静岡	70	9	19	3	13	1	6	1	0	1	1	1	0	0
	愛知	125	45	22	33	26	13	10	10	2	0	4	3	2	1
関西	三重	17	5	4	5	5	0	0	4	0	0	0	0	0	0
	滋賀	21	6	7	5	1	2	4	2	0	0	1	0	0	0
	京都	104	45	6	11	7	2	4	3	0	5	2	5	2	0
	大阪	118	53	22	29	20	6	8	11	1	2	5	3	7	3
	兵庫	74	5	7	13	5	0	3	0	1	0	6	0	5	5
	奈良	10	1	7	0	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0
	和歌山	6	6	3	6	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0
中国・四国	鳥取	9	1	3	4	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
	島根	3	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	岡山	27	10	11	9	5	3	5	1	0	0	1	2	0	1
	広島	44	13	13	2	9	4	1	2	0	0	0	1	0	0
	山口	19	6	2	3	4	0	2	2	0	0	0	1	0	1
	徳島	7	5	2	6	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	香川	6	1	5	1	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0
	愛媛	22	18	5	5	1	2	2	1	1	0	0	2	0	0
	高知	10	2	3	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
九州・沖縄	福岡	51	24	15	9	15	3	5	3	2	0	3	2	3	0
	佐賀	4	3	2	3	1	0	0	3	0	0	1	0	0	0
	長崎	12	2	7	1	2	0	3	1	0	0	1	0	1	0
	熊本	23	7	5	14	5	1	1	2	0	1	0	0	1	0
	大分	8	10	2	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1
	宮崎	9	1	2	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	鹿児島	28	25	8	19	13	2	2	6	1	0	3	0	0	3
	沖縄	23	10	7	23	5	4	2	5	0	0	0	0	0	1

表4. JIA分担班施設におけるJIA患者数

所属	JIA <16	JIA ≥16
北海道大学病院	10	7
KKR札幌医療センター	4	5
東北大学病院	1	0
宮城県立こども病院	29	15
群馬大学医学部附属病院	19	7
埼玉医科大学総合医療センター	2	0
埼玉県立小児医療センター	80	40
千葉大学医学部附属病院	5	6
千葉県こども病院	63	11
東京医科歯科大学医学部附属病院	24	27
日本医科大学付属病院	25	21
聖路加国際病院	31	15
公立大学法人 横浜市立大学附属病院	93	83
国立大学法人 信州大学医学部附属病院	12	8
金沢大学附属病院	20	15
あいち小児保健医療総合センター	103	37
京都府立医科大学附属病院	87	39
京都大学医学部附属病院	11	6
大阪医科大学附属病院	60	29
兵庫県立こども病院	50	2
岡山大学病院	13	6
広島大学病院	22	5
山口大学医学部附属病院	8	4
愛媛大学医学部附属病院	20	13
鹿児島大学医学部・歯学部附属病院	26	24
琉球大学医学部附属病院	23	10
本研究班全施設	841	435
全国	1694	743
%	49.6%	58.5%

Ⅲ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）
研究課題：若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・
重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定
に関する研究（課題番号：H27-難治等(難)-一般-029）

若年性特発性関節炎(JIA)の診療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者：大阪医科大学大学院医学科小児科学 助教 岡本 奈美

研究要旨 若年性特発性関節炎（以下 JIA）は、小児 1 万人あたり 1 人とまれな疾患であり、16 歳未満に発症した原因不明の慢性関節炎と定義される。JIA の中には 7 病型が存在し、それぞれ臨床像・合併症・治療反応性・疾患予後が異なるが、地域差・民族差が存在することが知られている。これまで本邦の JIA の疫学について、小児リウマチを専門とする医療機関の診療記録をベースにした詳細な疫学調査はなく、実態は不明な点が多かった。また、生命予後や身体機能予後に関わる重篤な合併症の病態はいまだ明らかでなく、定まった診断・治療指針はない。我々は全国の小児リウマチ診療基点病院に協力を依頼し、JIA の大規模疫学調査を行うと共に、マクロファージ活性化症候群、ぶどう膜炎の診療ガイドライン作成を目指して、実態調査並びに既知の分類基準との整合性を確認する作業を行う事とした。

A 研究目的

JIA の重篤な合併症として、二次性の血球貪食症候群であるマクロファージ活性化症候群（以下 MAS）や、眼のぶどう膜炎（以下 JIA-U）があげられる。MAS は一度発症すれば進行が早く致死性の疾患であるため、早期発見・早期治療介入が必要な疾患であるが、2005 年に初めて国際的な診断基準が作成され、2016 年に新たに分類基準として改訂された。2016 年改訂分類基準について、本邦 JIA 患児における有用性を確認し、診断・治療ガイドラインの策定につなげる必要がある。また、JIA-U は無症候性に発症するものが多く、放置すれば失明の可能性が高い疾患であるためこれも早期発見が重要である。本邦における JIA-U の実態や治療状況・視力予後についてはいまだ纏まっ

た報告がない。JIA そのものが地域差・民族差が大きい疾患であり、ぶどう膜炎発症に HLA の関与も報告されていることから、まずは本邦における患者実態を調査することが診断・治療ガイドライン策定に重要と考えた。

治療を考慮する上で、現在使用されている薬剤の有効性・安全性を確認することは重要である。JIA の関節炎に対し key drug として使用されるメトトレキサート（以下 MTX）は、高齢者に比し若年者で代謝が早く、欧米人に比しアジア人で血中濃度が上がりやすい事が近年報告されるようになってきた。現在の MTX 投与量・投与方法は主に欧米からの文献報告を基に規定されている。果たしてこれが本邦 JIA 患児に適切であるか？また、小児期を通じてとして全

年齢をひとくくりに考えてよいかどうか？という疑問がある。ガイドライン作成のためにはこれらの問題もクリアされなければならない。

JIAは発症10年ほどで全体として約3割程度が寛解する疾患である。しかし逆をいえば7割は成人期にも継続して診療を受けている。このいわゆる carry-over 症例について、誰がどういった形で診療をすべきかといった問題についてもガイドラインでは触れなければならない。しかし、成人への移行期に転居・転院・転科のため診療記録が途絶えてしまうためその実態は不明な点が多い。就学・就労など社会背景、妊娠出産といった次世代への影響、疾患・治療による悪性疾患や重篤な感染症の発生など長期的な予後についても実態調査を行う必要がある。

以上より、本邦のJIAの実態について大規模なデータベースを構築する必要があると考え、全国の小児リウマチ診療を行っている専門施設において疫学調査を行うこととした。

B 研究方法

当研究班の分担研究者および当分担研究班の研究協力者に依頼し、各施設の倫理委員会に承認を得た上で診療録に基づいた患者情報を収集した。ここの症例について、年齢、性別、発症時年齢、診断時年齢、現在の年齢、JIA病型、家族歴、合併症、発症時の臨床・検査所見、現在の臨床・検査所見、日常生活困難度、過去および現在治療、18歳以上に症例については社会背景について情報を得た。難治性病態についての評価方法は以下の通りである。

- ①各施設で診療中の全身型JIAの急性期情報について、MAS（過去10年間）あるいは全身型JIAの初発/再燃が疑われるエピソード（過去5年間）について、MASについてのカルテ情報を収集（熱型、皮疹やリンパ節腫脹・肝脾腫など臨床所見、血液・尿など生体試料の検査所見、治療など）。これらの情報を基に各委員がMAS確定群（definite MAS）、早期MAS群（onset of MAS）、非MAS群かに診断分けを行った。70%以上の一致率をもって最終判断とし、一致しない症例については班会議で意見交換を行いながら、delfi法により70%以上の一致率に至るまで投票を繰り返した。なお、上記3群の定義は過去の文献報告に基づく（Minoia F, et al. J Rheumatol. 2015;42:994-1001.）。振り分けたそれぞれの群について、2016年改訂MAS分類基準（Ravelli A, et al. Ann Rheum Dis. 2016 ;75:481-9.）を用いて判定し、感度・特異度について validation を行った。
 - ②各施設で診療中のぶどう膜炎症例（過去10年間）について、家族歴、治療、視力予後、眼科合併症、眼科手術歴について情報を収集し、検討を行った。
 - ③MTX内服中で、同意を得られたJIA患者について、普段の通院・血液検査時に合わせて赤血球中ポリグルタミル化MTX濃度（以下MTX-PG）を測定した。MTX-PGは内服時期に関わらず安定した代謝産物で、効果や副作用との相関が確認されている物質である。測定はシミックファーマサイエンス社に外注で依頼した。
- 【倫理的配慮】診療録に基づく患者情報の

収集については、各施設で倫理委員会の承認を得た文書を院内に掲示し、包括同意を得た。また、情報を収集・解析する際は、それぞれ施設ごとに新たに作成した患者番号を振り分けて収集し、個人が特定できない形とした。MTX 血中濃度測定患者には個別に研究計画・説明書を用いて各施設担当者が説明を行い、個々に同意書を得て行った。試料を検査会社に提出する際は、上記患者番号を用い、個人情報には触れない形をとった。研究参加は任意であり、参加の拒否・参加後の同意撤回はいつでも可能である旨も明記し、患者の意思尊重や個人情報の保護に配慮した。

C 研究結果 (図表参照)

1) 疫学研究

分担研究者および分担班研究協力者の所属する計 15 施設から 730 症例についての患者情報を得た。本研究班全体の調査として、日本小児学会認定専門医研修施設に依頼した一次調査では

(回答率 91.13%)、JIA 患者は 2,437 人 (平成 28 年 10 月 31 日時点) であり、推定で日本の JIA 患者の約 30% の情報が、本研究班の調査結果に含まれると考える。

発症時病型割合は、平成 17 年度の小児慢性特定疾患調査票を用いたデータに比べ、全身型が減少、少関節炎と付着部炎関連関節炎が増加していた。性別では全体で 67.8% と女児が多かったが、以前の報告同様、全身型と付着部炎関連関節炎では男児が多かった。しかし、全身発症型関節炎 (全身症状が落ち着いた後に関節炎のみが遷延する

タイプ) では有意に女児が多かった。発症年齢は全体で平均 6.6 歳 ± 4.3 歳、少関節炎ではより年少で、多関節炎・付着部炎関連関節炎・乾癬性関節炎でより年長で発症していた。多関節炎ではリウマトイド因子陽性と陰性では有意差があり、陰性群では二峰性の傾向がみられた ($p < 0.0001$)。発症から診断までの期間は全体で 0.55 ± 1.4 年で、ほぼ 1 年以内に診断がされており、全身型で最も早かった。ぶどう膜炎は全体の 6.1% に認め、少関節炎でも最も多く、次いで未分類関節炎で認められた。ぶどう膜炎の発症リスクとされる抗核抗体との関連については、無し群で有意に低い傾向にあったが、有り群でも 45.9% が 80 倍以下であった。

検査所見では、発症時の平均 CRP・血液沈降速度など炎症マーカーは全身型で高値であった。発症時の平均 MMP-3 は全病型で小児基準値 ($< 15 \text{ ng/ml}$) より著明高値であったが、付着部炎関連関節炎がもっとも低く、リウマトイド因子陰性多関節炎がもっとも高かった。診断時抗核抗体 (ANA) は性別・発症年齢・病型と相関があり (順序ロジスティック回帰分析

$p < 0.0001$ 、 $p = 0.0067$ 、 $p < 0.0001$)、女性・低年齢発症・少関節炎/多関節炎/付着部炎関連関節炎で高値になる傾向があった。抗シトルリン化ペプチド (CCP) 抗体 (ACPA) は全体の 10% で陽性で、リウマトイド因子 (RF) と相関がみられた。小児での関節破壊 score である Poznaski score (マイナスになるほど破壊進行) は 120 例で検討

され、リウマトイド因子陽性多関節炎では他の病型に比し有意に破壊進行を認めた。他の病型ではプラスになった症例も多く、成長期に治療が奏功すれば関節破壊が改善する可能性も示唆された。

疾患活動性を示す JADAS-27 の平均値は、診断時すべての病型が高疾患活動性 (4.2<) であったが、リウマトイド因子陽性多関節炎では他の病型に比し有意に高値であった。最終観察時は全身発症型関節炎・リウマトイド因子陽性多関節炎・付着部炎関連関節炎で中等度活動性が持続していた。日常生活困難度をしめす CHAQ-DI は最終観察時全病型で 0.6> と改善していた。最終観察時の JADAS-27 と CHAQ-DI の関連をみたグラフでは、わずかに相関がみられた。

治療中の感染症は 4415.51 人年で水痘：24 例、帯状疱疹：8 例、EB ウイルス感染症：11 例、サイトメガロウイルス感染症：6 例に認めたがいずれも後遺症なく治癒した。結核・B 型肝炎は一例もみとめなかった。

悪性腫瘍は 2 例に認め (胚細胞腫 1 例、悪性リンパ腫 1 例) いずれも治療により寛解している。これらの発症率は無治療 JIA における悪性疾患発症頻度を大きく超えるものではなく、治療による発生増加の証拠はなかった。

経過中、病的骨折は 11 例 (1.5%) に認め、全身発症型関節炎が最多であった。病的骨折とステロイドの累積投与期間、DEXA 法による骨密度 (L2-4) とは相関がみられた。

治療では、非ステロイド抗炎症薬

(NSAIDs) は全体の 80.7% で、MTX は全体の 78.2% で投与されており、投与量は 7mg/m²前後であった。MTX 中止 (全体で 28.7%) の理由は病勢改善が最も多く 124 例 (59.6%)、ついで副作用 45 例 (21.6%) で、うち 35 例 (16.8%) が嘔気によるものであった。無効中止例も 23 例 (11.1%) に認めた。グルココルチコイド (GC) は全体の 71% で使用され、全身型/全身発症型関節炎では半数が現在も継続中であった。関節型 JIA (全身型および全身発症型関節炎を除いた病型) の中ではリウマトイド因子陽性多関節炎で GC 内服継続者が多かった (p<0.0001)。GC の累積内服期間 (月) では、全身発症型関節炎で有意に長く、先にのべた病的骨折および骨密度低下との関連が示唆された。生物学的製剤は全体で 62.2% に投与歴があり、未分類関節炎が最も多く (90%)、ついでリウマトイド因子陽性多関節炎で (84.9%)、全身発症型関節炎 (76.4%)、全身型 (72.4%) であった。生物学的製剤を中止できたのは全体の 6.6% で、全身型が最多であった (10%)。製剤別ではトシリズマブが最も多く、最初に JIA に承認された生物学的製剤であること、全身型の全身症状に対して適応がある唯一の薬剤であること、承認適応が 2 歳から取得されていること、自己注射習得の必要がないことなどが要因と考える。その他の生物学的製剤では、ぶどう膜炎に対するインフリキシマブ投与症例が多かった。生物学的製剤が中止された理由で

は、全身型ではトシリズマブ使用例で病勢改善と副作用による中止が多かったが、全身発症型関節炎では病勢改善により中止した症例はなかった。関節型 JIA による中止理由は、それぞれ病勢改善 7.4%、一次無効 9.5%、二次無効 8.9%で、エタネルセプトでは一次無効、アダリムマブでは二次無効が多い傾向があった。その他の治療では、整形外科手術が 26 例 (3.6%)、血漿交換療法施行が 8 例 (1.1%) で施行されていた。

18 歳以上の成人例は 148 例あり、うち 71.6%が生物学的製剤を使用していた。病型別には大きな差がなかった。生活状況では就学 78 例、就労 42 例、就学・就労無し 13 例、不明 15 例であった。就学者では **absenteeism** は低いが、疾病による運動・勉強の制限や通院による負担が発生している事がわかる。就労者では、**absenteeism**、**presentism** の両方に影響が見られた。妊娠・出産は 4 例で認めた。

移行期医療については、59 例で特に理由なく小児科での診療が継続されており、85 例で具体的な成人科への転科予定もなかった。必ずしも生物学的成人年齢がスムーズな移行時期ではないことが伺え、その背景には本人や家人の受容・成熟状態が関わっていると思われる。

2) 2016 改訂 MAS 分類基準 validation

各施設から情報を得た全身型 JIA 患児は 98 例で、うち生物学的製剤使用中の症例、明らかな感染症の合併があり

修飾を受けているもの、他のリウマチ性疾患 (合併含む) が疑われるもの、エピソードのあった時点で 20 歳を超えているもの、欠損データが多く評価できないものは除外し、85 例を解析対象とした。Expert opinion から導かれた結果は MAS25 例 (onset6 例、full-blown9 例)、non-MAS (全身型 JIA の初発/再燃) 60 例という内訳であった。結果、2016 改訂 MAS 分類基準の感度は 96%、特異度は 100%と極めて良好な結果が得られ、本分類基準は日本人全身型 JIA 患者においても有用であることが確認された。特に、発症早期の段階に限定しても感度 100%であることから早期診断にも有用であった。なお、onset of MAS 群と full-blown MAS 群では後者で基準を満たす項目数が有意に多く、各項目の中では、後者で血小板と TG の基準を満たした率が高いことが判明し、MAS 進行度の判定にも有用である可能性が示唆された。

3) ぶどう膜炎実態調査

ぶどう膜炎を合併した 34 症例 (中央値 13.5 歳) についてカルテ情報を整理した。海外既報告と比較してみると、少関節炎が多い (76%)、女性が多い

(76%、ただしこれは最多数の病型である少関節炎の女性比率と同程度)、4 歳以下で関節炎発症が多い (62%)、関節炎発症から 7 年以内のぶどう膜炎発症が多く (97%)、関節炎より以前にぶどう膜炎を発症するものもある (6%)、半分は両側性で、半分は無症状、前房部に多く (68%)、関節炎の活動性と無

関係に発症（94%が非活動期）、ANA陽性が多く（62%）、リウマトイド因子陰性が多い（97%）など本邦でも共通する特徴が確認された。新たな情報としては、ACPAは測定された全員が陰性であったこと、HLA-B27、51の陽性率は高くないこと、発症時の合併症は41%で見られ虹彩後癒着が最も多いが、経過中に合併症が56%に増加し、白内障の比率が増える、ぶどう膜炎発症抑制効果があるとされるMTX内服中でも発症し（24%）、ぶどう膜炎発症後はMTX内服例が96%に増加するものの病勢をコントロールできず56%で生物学的製剤が必要となる、生物学的製剤ではインフリキシマブが最も使用されている、44%がすでに眼科手術をうけており23%が眼内レンズを挿入していることがわかった。総合すると、JIAに合併するぶどう膜炎（JIA-U）は疾患活動性が低く、免疫抑制剤を使用し、定期的に眼科受診をしている症例においても発症し、一旦発症すると難治性で寛解（41%で炎症が沈静化せず）、視力予後の悪い疾患であることが伺える。特に、白内障の合併が多く、数十年で入れ替えの必要な眼内レンズを小児期ですでに挿入されていること、小児やJIAに適応のない生物学的製剤も治療の選択肢になっていることなどは、今後のぶどう膜炎管理を考える上で重大な事実であり、むしろいかにぶどう膜炎を発症させないようにするか、が焦点になってくると考える。

4) MTX-PG 血中濃度

各施設から同意が得られた、JIA 患児 36 人について、現在 MTX-PG 濃度を解析中である。

D 健康危険情報

疫学研究のためなし

E 研究発表

1 論文発表

現在準備中

2 学会発表

・安村純子ら. 本邦の小児リウマチ専門施設における若年性特発性関節炎関連ぶどう膜炎の実態調査-疫学. 第61回日本リウマチ学会総会・学術集会（2017年4月、福岡）

・八代将登ら. 本邦の小児リウマチ専門施設における若年性特発性関節炎関連ぶどう膜炎の実態調査-治療. 第61回日本リウマチ学会総会・学術集会（2017年4月、福岡）

3 出版物

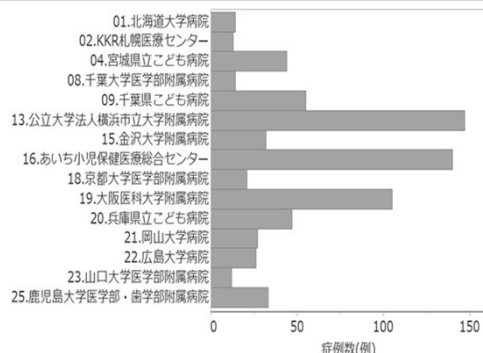
・一般社団法人日本リウマチ学会 小児リウマチ調査検討小委員会編集. 若年性特発性関節炎診療ハンドブック 2007.（2017年4月発刊に向けて現在出版準備中）

F 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

JIA疫学二次調査結果

疫学調査参加施設と症例数



発症時病型

病型	症例数(例)	割合(%)	H17小慢 (%) *
全身型	203	(27.8%)	41.7
少関節炎	242	(33.2%)	20.2
リウマトイド因子陰性多関節炎	96	(13.2%)	13.7
リウマトイド因子陽性多関節炎	145	(19.9%)	18.2
付着部炎関連関節炎	26	(3.6%)	1.6
乾癬性関節炎	4	(0.5%)	0.0
未分類関節炎	10	(1.4%)	4.7
不明	4	(0.5%)	
合計	730	(100%)	100

* 武井. 平成17年度厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)

最終観察時の病型

* 以降、“全身症状消失後に遷延する関節炎”を伴わない全身型のみ

病型	症例数(例)	割合(%)
全身型 *	170	(23.3%)
全身発症型関節炎	34	(4.7%)
持続型少関節炎	184	(25.2%)
進展型少関節炎	40	(5.5%)
リウマトイド因子陰性多関節炎	95	(13%)
リウマトイド因子陽性多関節炎	152	(20.8%)
付着部炎関連関節炎	37	(5.1%)
乾癬性関節炎	4	(0.5%)
未分類関節炎	10	(1.4%)
不明	4	(0.5%)
合計	730	(100%)

性別

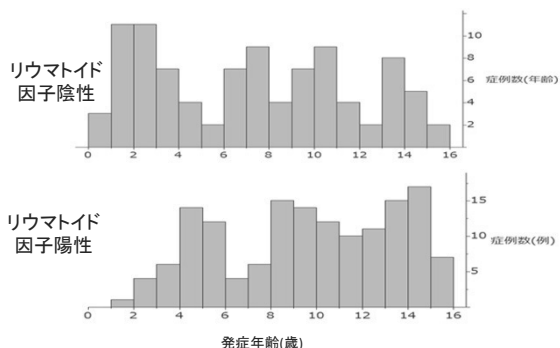
最終観察時病型	(Fisherの正確検定/両側検定)		
	女児	男児	症例数
全身型	84(49.4%)	86	170
全身発症型関節炎	24(70.6%)	10	34
持続型少関節炎	130(70.6%)	54	184
進展型少関節炎	33(82.5%)	7	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	67(70.5%)	28	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	128(84.2%)	24	152
付着部炎関連関節炎	18(48.6%)	19	37
乾癬性関節炎	0(0%)	4	4
未分類関節炎	8(80.0%)	2	10
全体	492(67.8%) (例)	234 (例)	726 (例)

p=0.0253

平均発症年齢

最終観察時病型	平均発症年齢±SD	症例数
全身型	5.7±3.7	170
全身発症型関節炎	5.3±3.7	34
持続型少関節炎	4.6±3.7	183
進展型少関節炎	4.7±3.8	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	7.2±4.4	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	9.6±3.8	148
付着部炎関連関節炎	9.6±4.1	36
乾癬性関節炎	12.7±1.6	4
未分類関節炎	7.2±4.0	10
全体	6.6±4.3 (歳)	720 (例)

多関節炎の発症年齢分布



発症から診断までの期間

最終観察時病型	平均期間±SD	症例数
全身型	0.24±1.15	166
全身発症型関節炎	0.20±0.67	34
持続型少関節炎	0.43±0.78	180
進展型少関節炎	0.83±1.21	39
リウマトイド因子陰性多関節炎	0.91±2.29	94
リウマトイド因子陽性多関節炎	0.58±1.13	147
付着部炎関連関節炎	0.86±1.27	36
乾癬性関節炎	1.69±2.13	4
未分類関節炎	2.58±4.11	10
全体	0.55±1.40	710

(年) (例)

ぶどう膜炎合併率

最終観察時病型	ぶどう膜炎あり	症例数
全身型	0(0%)	170
全身発症型関節炎	0(0%)	34
持続型少関節炎	29(15.7%)	184
進展型少関節炎	7(17.5%)	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	5(5.3%)	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	0(0%)	152
付着部炎関連関節炎	2(5.4%)	37
乾癬性関節炎	0(0%)	4
未分類関節炎	1(10.0%)	10
全体	44(6.1%)	726

(例) (例)

ぶどう膜炎合併の有無と診断時抗核抗体の関連

		抗核抗体					
		40倍以下	80倍	160倍	320倍	640倍	1280倍以上
ぶどう膜炎 / 例 (%)	有	6 16.2%	11 29.7%	11 29.7%	2 5.4%	5 13.5%	2 5.4%
	無	371 64.5%	76 13.2%	77 13.4%	35 6.1%	12 2.1%	4 0.7%

Pearsonのχ²乗検定 p<0.0001

家族歴

- JIA:11例(1.5%)
- 関節リウマチ:34例(4.7%)
- 上記以外のリウマチ性疾患:26例(3.6%)
- HLA-B27関連疾患:6例(0.8%)
- 甲状腺疾患の家族歴:12例(1.6%)

診断時CRP

最終観察時病型	平均CRP±SD	症例数
全身型	11.0±7.0	133
全身発症型関節炎	10.8±6.9	25
持続型少関節炎	1.3±2.0	171
進展型少関節炎	0.8±1.2	33
リウマトイド因子陰性多関節炎	2.7±3.6	81
リウマトイド因子陽性多関節炎	1.8±2.1	133
付着部炎関連関節炎	1.3±2.1	36
乾癬性関節炎	3.6±6.3	4
未分類関節炎	1.1±1.8	8

(mg/dL) (例)

診断時血液沈降速度(1時間値)

最終観察時病型	平均値±SD	症例数
全身型	81.6±31.2	94
全身発症型関節炎	95.3±30.1	12
持続型少関節炎	32.5±26.1	154
進展型少関節炎	28.9±18.3	29
リウマトイド因子陰性多関節炎	39.3±31.4	78
リウマトイド因子陽性多関節炎	44.3±28.1	124
付着部炎関連関節炎	27.8±31.4	35
乾癬性関節炎	36.5±44.6	4
未分類関節炎	22.1±14.8	7

(mm/hr) (例)

診断時血清MMP-3(ステロイド非投与例)

最終観察時病型	平均MMP-3±SD	症例数
全身型	130.5±253.8	78
全身発症型関節炎	94.8±141.5	17
持続型少関節炎	185.8±402.9	141
進展型少関節炎	109.7±95.6	27
リウマトイド因子陰性多関節炎	270.5±323.5	64
リウマトイド因子陽性多関節炎	167.3±153.4	102
付着部炎関連関節炎	81.2±126	32
乾癬性関節炎	200.1±214	4
未分類関節炎	130.5±253.8	78

(ng/mL) (例)

少関節炎 vs. 付着部炎関連関節炎 p=0.0005
 リウマトイド因子陰性多関節炎 vs. 付着部炎関連関節炎 p<0.0001 (Wilcoxon検定)

診断時抗核抗体

	40倍以下	80倍	160倍	320倍	640倍	1280倍	
女	218 52.0%	75 17.9%	73 17.4%	31 7.4%	16 3.8%	6 1.4%	例 (%)
男	158 82.3%	12 6.3%	15 7.8%	6 3.1%	1 0.5%	0 0%	

Pearsonのχ²乗検定 p<0.0001

抗核抗体	平均年齢±SD	症例数(例)
40倍以下	7.2±4.4	374
80倍	6.7±4.4	87
160倍	5.7±4.3	88
320倍	5.8±4.4	37
640倍	5.8±4.5	16
1280倍以上	4.1±3.2	6

診断時の抗核抗体

最終観察時病型	40倍以下	80倍	160倍	320倍	640倍	1280倍	
全身型	110 90.9%	7 5.8%	4 3.3%	0 0%	0 0%	0 0%	
全身発症型関節炎	21 100.0%	0 0%	0 0%	0 0%	0 0%	0 0%	
持続型少関節炎	79 45.4%	29 16.7%	41 23.6%	16 9.2%	8 4.6%	1 0.6%	
進展型少関節炎	13 38.2%	4 11.8%	10 29.4%	4 11.8%	2 5.9%	1 2.9%	
リウマトイド因子陰性多関節炎	41 51.3%	15 18.8%	11 13.8%	9 11.3%	2 2.5%	2 2.5%	
リウマトイド因子陽性多関節炎	74 56.9%	25 19.2%	18 13.8%	7 5.4%	4 3.1%	2 1.5%	
付着部炎関連関節炎	30 83.3%	3 8.3%	1 2.8%	1 2.8%	1 2.8%	0 0%	
乾癬性関節炎	2 50.0%	1 25.0%	1 25.0%	0 0%	0 0%	0 0%	
未分類関節炎	4 50.0%	3 37.5%	1 12.5%	0 0%	0 0%	0 0%	(例)

診断時のリウマトイド因子

最終観察時病型	陽性	陰性	症例数
全身型	2(1.9%)	102(98.1%)	104
全身発症型関節炎	1(4.8%)	20(95.2%)	21
持続型少関節炎	2(1.2%)	165(98.8%)	167
進展型少関節炎	1(2.7%)	36(97.3%)	37
リウマトイド因子陰性多関節炎	4(5.0%)	76(95.0%)	80
リウマトイド因子陽性多関節炎	121(95.3%)	6(4.7%)	127
付着部炎関連関節炎	0(0%)	34(100%)	34
乾癬性関節炎	0(0%)	3(100%)	3
未分類関節炎	3(37.5%)	5(62.5%)	8
全体	134(23.1%)	447(76.9%)	581 (例)

診断時の抗CCP抗体

最終観察時病型	陽性	陰性	症例数
全身型	2(4.7%)	41(95.3%)	43
全身発症型関節炎	0(0%)	10(100%)	10
持続型少関節炎	3(2.3%)	126(97.7%)	129
進展型少関節炎	2(7.7%)	24(92.3%)	26
リウマトイド因子陰性多関節炎	4(6.3%)	60(93.8%)	64
リウマトイド因子陽性多関節炎	91(82.0%)	20(18.0%)	111
付着部炎関連関節炎	0(0%)	27(100%)	27
乾癬性関節炎	0(0%)	4(100%)	4
未分類関節炎	3(50.0%)	3(50.0%)	6
全体	315(25.0%)	105(75.0%)	420 (例)

診断時リウマトイド因子と抗シトルリン化ペプチド抗体

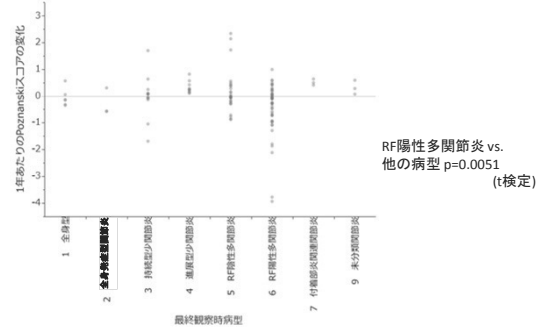
リウマトイド因子:RF
抗シトルリン化ペプチド抗体:ACPA

		ACPA		例 (%)
		陰性	陽性	
RF	陰性	129 88.4 %	17 11.6 %	
	陽性	15 21.1 %	56 78.9 %	

Fisherの正確検定/両側検定 p<0.0001

Poznanski score 1年あたりの変化量(左手)

経過中と診断時の2回Poznanski scoreのdataが得られた120例での検討
(平均観察期間 3.6±2.8年)



診断時JADAS-27

最終観察時病型	平均値±SD	症例数
全身型	14.60	1
全身発症型関節炎	22.10	1
持続型少関節炎	13.37±6.78	19
進展型少関節炎	15.96±7.33	5
リウマトイド因子陰性多関節炎	16.59±7.46	16
リウマトイド因子陽性多関節炎	24.90±7.98	33
付着部炎関連関節炎	14.26±7.81	12
乾癬性関節炎	N.D	0
未分類関節炎	13.00	1

RF陽性多関節炎 vs. その他の病型 p<0.0001
(Wilcoxon検定)

最終観察時JADAS-27

最終観察時病型	平均値±SD	症例数
全身型	0.30±0.84	85
全身発症型関節炎	2.35±6.23	22
持続型少関節炎	0.97±2.21	98
進展型少関節炎	2.03±3.19	23
リウマトイド因子陰性多関節炎	1.34±2.78	55
リウマトイド因子陽性多関節炎	2.71±4.22	82
付着部炎関連関節炎	3.36±4.78	22
乾癬性関節炎	0.00	1
未分類関節炎	1.46±3.71	9

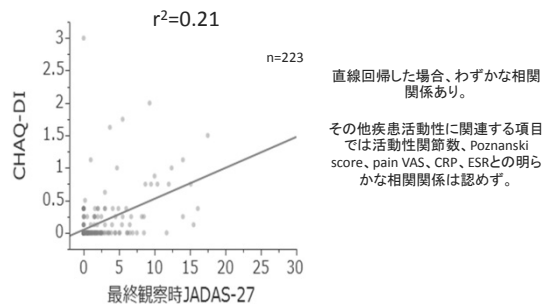
全身型 vs. その他の病型 p<0.0001
RF陽性多関節炎 vs. その他の病型 p=0.0002
(Wilcoxon検定)

最終観察時CHAQ DI

最終観察時病型	平均値±SD	Sample数
全身型	0.04±0.15	70
全身発症型関節炎	0.06±0.15	6
持続型少関節炎	0.11±0.28	96
進展型少関節炎	0.31±0.64	23
リウマトイド因子陰性多関節炎	0.13±0.32	41
リウマトイド因子陽性多関節炎	0.30±0.51	69
付着部炎関連関節炎	0.26±0.36	14
乾癬性関節炎	0.00±0.00	2
未分類関節炎	1.00±1.73	3 (例)

全身型 vs. RF陽性多関節炎 p<0.0001
全身型 vs. 付着部炎関連関節炎 p=0.0005
(Wilcoxon検定)

最終観察時CHAQ DIとJADAS-27の相関



病的骨折について

最終観察時病型	病的骨折あり	症例数
全身型	6(3.5%)	170
全身発症型関節炎	4(11.8%)	34
持続型少関節炎	0(0%)	184
進展型少関節炎	0(0%)	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	0(0%)	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	1(0.7%)	152
付着部炎関連関節炎	0(0%)	37
乾癬性関節炎	0(0%)	4
未分類関節炎	0(0%)	10
全体	11(1.5%)	726 (例)

全身型 vs. 全身発症型関節炎 p=0.0648
 全身発症型関節炎 vs. その他の病型 p=0.0011
 (Fisherの正確検定/両側検定)

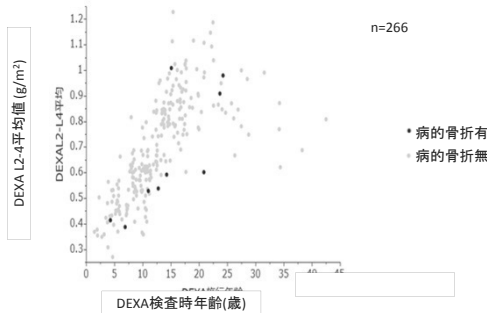
病的骨折の有無とグルココルチコイドの累積投与期間

	累積投与期間	症例数
病的骨折無	47.2±56.3	489
病的骨折有	154.1±115	111

(月) (例)

p=0.0002 (Wilcoxon検定)

DEXA L2-4平均値の年齢別分布 (病的骨折の有無別)



NSAIDs投与歴

最終観察時病型	投与歴あり	症例数
全身型	97(57.1%)	170
全身発症型関節炎	21(61.8%)	34
持続型少関節炎	165(89.7%)	184
進展型少関節炎	33(82.5%)	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	84(88.4%)	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	141(92.8%)	152
付着部炎関連関節炎	32(86.5%)	37
乾癬性関節炎	4(100%)	4
未分類関節炎	9(90.0%)	10
全体	11(80.7%)	726 (例)

投与されたNSAIDsの種類と投与された症例数

- イブプロフェン 342例
- ナプロキセン 162例
- フルルビプロフェン 74例
- セレコキシブ 18例
- ロキソプロフェン 51例
- ジクロフェナク 20例
- メロキシカム 20例
- アスピリン 21例
- エトドラク 5例 など

MTXの投与歴

最終観察時病型	投与歴なし	投与既往	最終観察時投与中	症例数
全身型	118(69.4%)	32(18.8%)	20(11.8%)	170
全身発症型関節炎	7(20.6%)	13(38.2%)	14(41.2%)	34
持続型少関節炎	11(6.0%)	48(26.1%)	125(67.9%)	184
進展型少関節炎	2(5.0%)	10(25.0%)	28(70.0%)	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	2(2.1%)	35(36.8%)	58(61.1%)	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	5(3.3%)	57(37.5%)	90(59.2%)	152
付着部炎関連関節炎	14(37.8%)	7(18.9%)	16(43.2%)	37
乾癬性関節炎	0(0%)	2(50.0%)	2(50.0%)	4
未分類関節炎	0(0%)	4(40.0%)	6(60.0%)	10 (例)
全体	11(28.7%)	208(28.7%)	359(49.5%)	726

全身型 vs. 全身発症型関節炎 MTX投与歴 30.6% vs. 79.4% p<0.0001
 (Fisherの正確検定/両側検定)

MTXの投与量

最終観察時病型	平均量	±SD	Sample数
全身型	7.2	±2.8	20
全身発症型関節炎	8.5	±2.0	14
持続型少関節炎	7.4	±2.4	120
進展型少関節炎	6.8	±2.8	26
リウマトイド因子陰性多関節炎	7.0	±2.4	53
リウマトイド因子陽性多関節炎	7.6	±2.5	85
付着部炎関連関節炎	7.1	±2.3	14
乾癬性関節炎	7.5	±1.3	2
未分類関節炎	7.0	±2.2	5

(mg/m²) (mg/m²) (例)

グルココルチコイドの投与歴

最終観察時病型	投与歴なし	投与既往	最終観察時 投与中	症例数
全身型	3(1.8%)	81(46.6%)	86(50.7%)	170
全身発症型関節炎	0(0%)	17(50.0%)	17(50.0%)	34
持続型少関節炎	91(49.5%)	78(42.3%)	15(8.2%)	184
進展型少関節炎	17(42.5%)	19(47.5%)	4(10.0%)	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	35(36.8%)	50(52.6%)	10(10.5%)	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	33(21.7%)	84(55.3%)	35(23.0%)	152
付着部炎関連関節炎	24(64.9%)	11(29.7%)	2(5.4%)	37
乾癬性関節炎	3(75.0%)	1(25.0%)	0(0%)	4
未分類関節炎	5(50.0%)	3(30.0%)	2(20.0%)	10
全体	211(29.1%)	344(47.4%)	171(23.6%)	726(例)

グルココルチコイド累積投与期間の平均

最終観察時病型	平均量±SD	症例数
全身型	54.8±57.9	165
全身発症型関節炎	107.0±93.8	33
持続型少関節炎	32.7±31.6	87
進展型少関節炎	35.7±42.3	23
リウマトイド因子陰性多関節炎	39.3±54.5	59
リウマトイド因子陽性多関節炎	50.1±66.7	114
付着部炎関連関節炎	13.9±14.2	13
乾癬性関節炎	72.0	1
未分類関節炎	51.4±41.8	5
	49.5±60.1	500

(月) (例)

全身型 vs. 全身発症型関節炎 p=0.0008 (Wilcoxon検定)

生物学的製剤投与歴

最終観察時病型	投与歴なし	投与既往	最終観察時 投与中	症例数
全身型	47(27.6%)	17(10.0%)	106(62.4%)	170
全身発症型関節炎	8(23.5%)	3(8.8%)	23(67.6%)	34
持続型少関節炎	121(65.8%)	10(5.4%)	53(28.8%)	184
進展型少関節炎	19(47.5%)	2(5.0%)	19(47.5%)	40
リウマトイド因子陰性多関節炎	37(38.9%)	7(7.4%)	51(53.7%)	95
リウマトイド因子陽性多関節炎	23(15.1%)	7(4.6%)	122(80.3%)	152
付着部炎関連関節炎	16(43.2%)	1(2.7%)	20(54.1%)	37
乾癬性関節炎	2(50.0%)	1(25.0%)	1(25.0%)	4
未分類関節炎	1(10.0%)	0(0.0%)	9(90.0%)	10(例)
全体	274(37.7%)	48(6.6%)	404(55.6%)	726

各生物学的製剤ごとの投与率 (JIAに適應のあるもののみ)

	全身型	全身発症型関節炎	持続型少関節炎	進展型少関節炎	リウマトイド因子陰性多関節炎	リウマトイド因子陽性多関節炎	付着部炎関連関節炎	乾癬性関節炎	未分類関節炎
症例数	170	34	184	40	95	152	37	4	10
トシリズマブ									
投与既往	25(14.7%)	6(17.7%)	6(3.3%)	1(2.5%)	7(7.4%)	18(11.8%)	1(2.5%)	1(25%)	1(10%)
投与中	93(54.7%)	19(55.9%)	22(12%)	7(17.5%)	20(21.1%)	67(44.1%)	0	0	3(30%)
エタネルセプト									
投与既往	3(1.8%)	1(2.9%)	2(1.1%)	3(7.5%)	3(3.2%)	21(13.8%)	1(2.7%)	0	0
投与中	3(1.8%)	0	3(1.6%)	4(10%)	13(13.7%)	22(14.5%)	2(5.4%)	0	0
アダリムマブ									
投与既往	1(0.59%)	1(2.9%)	13(7.1%)	2(5%)	4(4.2%)	21(13.8%)	2(5.4%)	1(25%)	1(10%)
投与中	1(0.59%)	0	20(10.9%)	4(10%)	13(13.7%)	19(12.5%)	15(40.5%)	1(25%)	5(50%)
投与歴有(過去+現在)	123(72.4%)	26(76.4%)	63(35.2%)	21(52.5%)	58(61.1%)	129(84.9%)	21(56.8%)	2(50%)	9(90%)

*投与既往=過去に投与され、途中で中止となった症例

その他の生物学的製剤 (治験症例含む)

- ・インフリキシマブ: 投与既往20例、投与中10例(10例中7例でぶどう膜炎合併)
- ・ゴリムマブ: 投与既往1例、投与中7例
- ・セルトリズマブ・ベゴル: 投与中3例
- ・アバタセプト: 投与既往1例、投与中7例
- ・カナキヌマブ: 投与既往1例、投与中11例

全身型及び全身発症型関節炎における生物学的製剤中止理由 (%は投与症例総数に対する数値)							
	病勢改善	一次無効	二次無効	副作用	その他	中止例数 (投与例総数)	
トシリズマブ	全身型	15	1	2	6	1	25(118)
		12.7%	0.8%	1.7%	5.1%	0.8%	21.2%
	全身発症型関節炎	0	4	0	2	0	6(25)
		0%	16%	0%	8%	0%	24%
エタネルセプト	全身型	0	2	1	0	0	3(6)
		0%	33.3%	16.7%	0%	0%	50%
	全身発症型関節炎	0	1	0	0	0	1(1)
		0%	100%	0%	0%	0%	100%
アダリムマブ	全身型	0	0	1	0	0	1(2)
		0%	0%	50%	0%	0%	50%
	全身発症型関節炎	0	0	1	0	0	1(1)
		0%	0%	100%	0%	0%	100%
全体	15	8	5	8	1	37(153)	
	9.8%	5.2%	3.3%	5.2%	0.7%	24.2%	

関節型JIAにおける生物学的製剤の中止理由 (%は投与症例総数に対する数値)						
	病勢改善	一次無効	二次無効	副作用	その他	中止症例総数 (投与症例総数)
TCZ	14	10	5	3	3	35(154)
	9.1%	6.5%	3.2%	1.9%	1.9%	22.7%
ETN	4	14	7	3	2	30(74)
	5.4%	18.9%	9.5%	4.1%	2.7%	40.5%
ADA	8	9	19	6	2	44(121)
	6.6%	7.4%	15.7%	5%	1.7%	36.4%
全体	26	33	31	12	7	109(349)
	7.4%	9.5%	8.9%	3.4%	2%	31.2%

Fisherの正確検定/両側検定のp値 (α=0.167)

	病勢改善	一次無効	二次無効	副作用
TCZ vs. ETN	p=0.4362	p=0.0096	p=0.0609	p=0.3927
TCZ vs. ADA	p=0.5081	p=0.8133	p=0.0004	p=0.1880
ETN vs. ADA	p=1.0000	p=0.0216	p=0.2790	p=1.0000

最終観察時の生物学的製剤使用(18歳以上)			
最終観察時病型	生物学的製剤投与例	%	症例数
全身型	18	85.7	21
全身発症型関節炎	8	72.7	11
持続型少関節炎	8	50	16
進展型少関節炎	5	71.4	7
リウマトイド因子陰性多関節炎	15	78.9	24
リウマトイド因子陽性多関節炎	45	76.3	59
付着部炎関連関節炎	2	50	4
乾癬性関節炎	1	50	2
未分類関節炎	4	100	4
全体	106	71.6	148

成人例(18歳以上)の就学状況			
出席状況		運動制限	
病勢のために欠席することはない	73	制限なし	61
病勢のために欠席・遅刻・早退する	1	強い運動は制限	10
病勢が強く、通学できていない	1	運動禁止	3
病勢以外の理由で不登校となっている	0		
詳細不明	3		
(例)			
通院の負担		勉強	
通院による就学への負担はない	53	不自由なく可能	69
負担が大勢に影響はない	16	病勢のために制限されている	3
通院により就学上、非常に不利な状況となっている	1	詳細不明	6
詳細不明	8		
(例)			

成人例(18歳以上)の就労状況			
出席状況		運動制限	
病勢のために就労時間が制限・欠勤することはない	35	制限なく労働できている	18
病勢のために欠勤・遅刻・早退する。フルタイムで働けない	4	激しい肉体労働は制限されている	12
病勢が強く休職している	0	仕事上、肉体労働は行わない	11
病勢以外の理由で休職している	1	詳細不明	1
詳細不明	2		
(例)			
通院の負担			
通院による就学への負担はない	23		
負担が大勢に影響はない	16		
通院により就労上、非常に不利な状況となっている	2		
詳細不明	1		
(例)			

成人例(18歳以上)を小児科で診療している理由	
特に理由なし	59
理由あり	89
(例)	
小児科で診療されている理由(複数回答可)	
まだ学生であるため	28
病勢がまだコントロールできていないため	13
本人の希望	40
保護者の希望	16
紹介可能な成人科が存在しないため	3
成人科と併診している	4

成人例(18歳以上)が成人診療科へ 転科する予定

予定なし 85
 予定あり 63
 (例)

- 予定している転科のタイミング(複数回答可)
- 進学を契機に転科予定 9
 - 就職を契機に転科予定 16
 - 結婚、育児希望を契機に転科予定 5
 - 病勢がコントロール出来次第転科予定 6
 - 本人の希望のタイミングで転科予定 22
 - 保護者の希望のタイミングで転科予定 8
 - 紹介可能な成人科が見つかり次第転科予定 7

マクロファージ活性化症候群

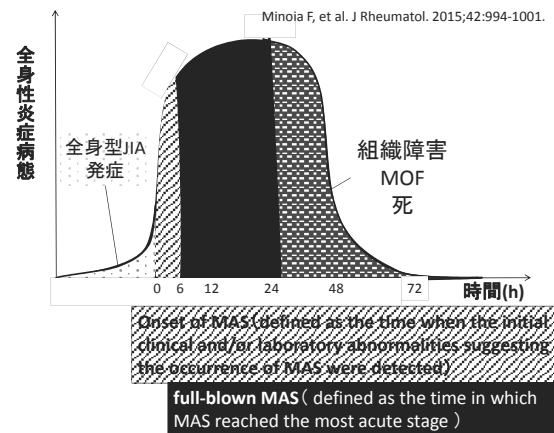
The classification criteria for MAS in systemic juvenile idiopathic arthritis

(Ravelli A, et al. Ann Rheum Dis. 2016 ;75:481-9.)

全身型JIAと診断されている症例または疑われる発熱を呈する症例において、下記の基準を満たす場合

- 1 血清フェリチン値上昇 (>684ng/ml)
+
- 2 下記のうち少なくとも2項目以上を満たした場合

- 血小板減少(≤18.1万/μl)
- AST上昇(>48 IU/l)
- トリグリセライド上昇(>156mg/dl)
- 低フィブリノーゲン血症(≤360mg/dl)



結果

【対象】 合計98例
 2006年10月～2016年5月にMASと診断した症例 32例
 2013年4月～2015年12月の全身型JIA (s-JIA)の新規診断例および再燃例 66例

【除外症例】 合計13例
 MAS以外の疾患が疑われる症例 4例
 TCZ使用例 2例
 データが不十分(フェリチン値なし等) 7例 (MAS診断例2例, s-JIA症例5例)

解析対象例 85例

MAS症例 25例
 onset of MAS 6例
 full-blown MAS 19例
 s-JIA症例 60例

Full-blown MAS 19症例のMAS合併時の各項目値

症例	フェリチン	血小板	AST	TG	fibrinogen
	>684	≤18.1	>48	>156	≤360
6	8042.6	20	136	320	244
8	46255	11.5	308	nd	360
9	8983.1	17.7	542	287	289
14	1397	13.2	633	nd	308
23	32572	15.2	1729	nd	67
24	5120	17	61	nd	nd
25	7398	21.6	432	213	286.3
26	7963	19.5	245	nd	345
27	18027.5	10.5	422	130	276
29	3665	18.5	182	nd	153
50	85836	12.6	2191	273	299
56	13087.1	13.5	49	118	459
57	20755.7	18	78	215	226
64	55442.4	20.8	80	nd	384
67	3382.7	15.5	170	284	191
77	11080.3	14.1	99	141	nd
95	68310	7.1	1096	325	118
96	42490	8.2	356	397	nd
98	4144	12.8	76	290	286

分類基準の条件を満たす

Onset of MAS 6症例のMAS合併時の各項目値

症例	フェリチン >684	血小板 ≤18.1	AST >48	TG >156	fibrinogen ≤360
2	10351	22.1	62	150	308
7	6030	21.7	64	140	306
20	2510	25.6	403	108	301
62	30373.3	19.7	56	144	330
79	7550.38	21.6	82	240	487
87	2202	14.9	95	227	204

	Full-blown MAS	Onset of MAS	S-JIA
診断基準を満たすもの	18	6	0
診断基準を満たさないもの	1	0	60
特異度	94.7%	100%	
感度		96% (24/25)	100% (25/25)

Onset of MAS/Full-blown MAS 24症例

診断基準を満たすもの	24例	4項目満たす	3項目満たす	2項目満たす
4項目すべて測定	16	7	3	5
3項目測定	7		4	3
2項目測定	1			1

Full-blown MAS 18症例

診断基準を満たすもの	18例	4項目満たす	3項目満たす	2項目満たす
4項目すべて測定	10	6	3	1
3項目測定	7		4	3
2項目測定	1			1

Onset of MAS 6症例

診断基準を満たすもの	6例	4項目満たす	3項目満たす	2項目満たす
4項目すべて測定	10	1	0	5

4項目すべて測定した症例での比較では、Full-blown MASの方が多くの項目を満たす症例が多い。
→ 重症化した方が陽性項目数が増える。

Onset of MAS/Full-blown MAS 24症例

	測定されていた症例	基準を満たした症例	基準を満たさない症例
血小板数	25 (100%)	15 (60%)	10 (40%)
AST	25 (100%)	25 (100%)	0 (0%)
TG	18 (72%)	11 (61%)	7 (39%)
Fibrinogen	22 (88%)	19 (86%)	3 (14%)

Full-blown MAS 18症例

	測定されていた症例	基準を満たした症例	基準を満たさない症例
血小板数	19 (100%)	14 (74%)	5 (26%)
AST	19 (100%)	19 (100%)	0 (0%)
TG	12 (63%)	9 (75%)	3 (25%)
Fibrinogen	16 (84%)	14 (88%)	2 (12%)

Onset of MAS 6症例

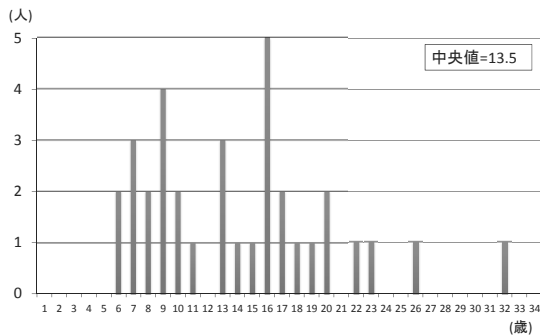
	測定されていた症例	基準を満たした症例	基準を満たさない症例
血小板数	6 (100%)	1 (17%)	5 (83%)
AST	6 (100%)	6 (100%)	0 (0%)
TG	6 (100%)	2 (33%)	4 (66%)
Fibrinogen	6 (100%)	5 (83%)	1 (17%)

TG値が測定される割合が低い傾向にある。
AST値の上昇、Fibrinogen値の低下はMAS早期から認められ、
病期が進行すると血小板数の低下やTGの上昇を認める。

JIAに合併するぶどう膜炎 (JIA-U)

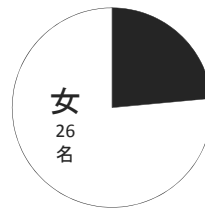
項目: 人口動態

現在の年齢 n=34

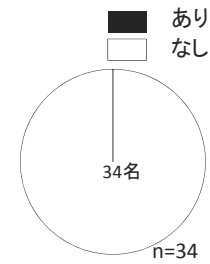


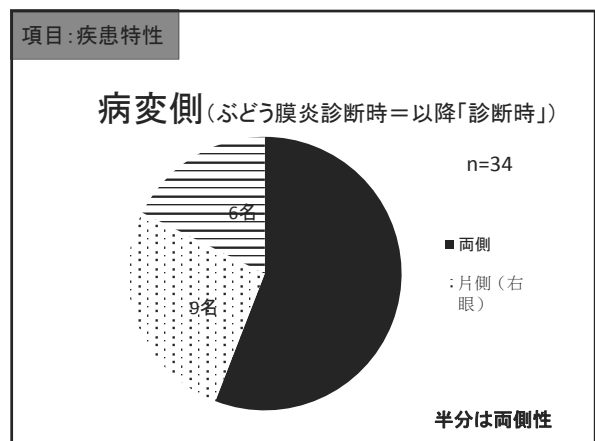
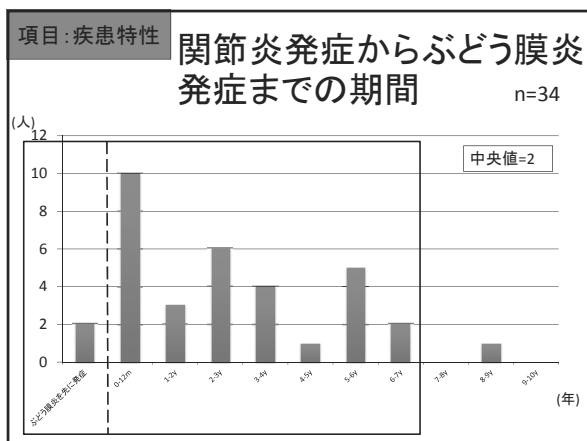
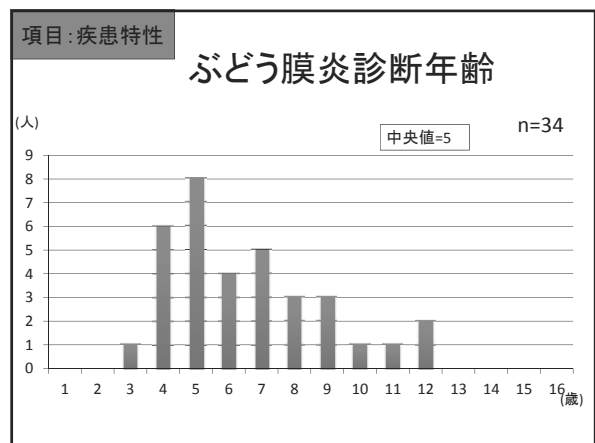
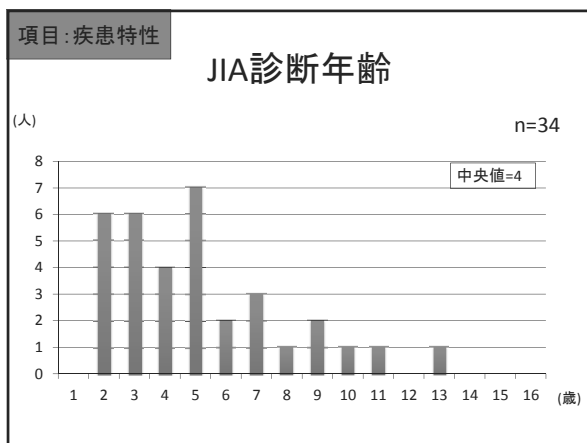
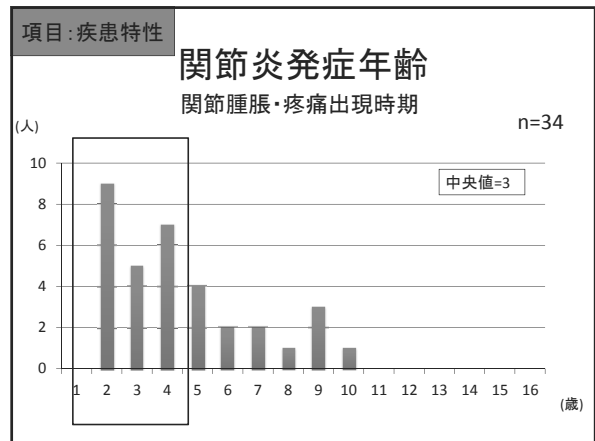
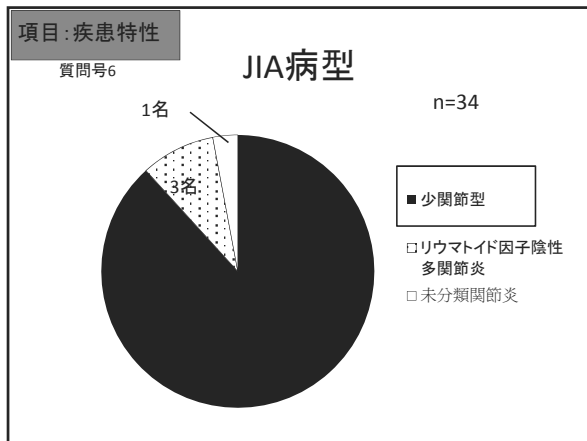
項目: 人口動態

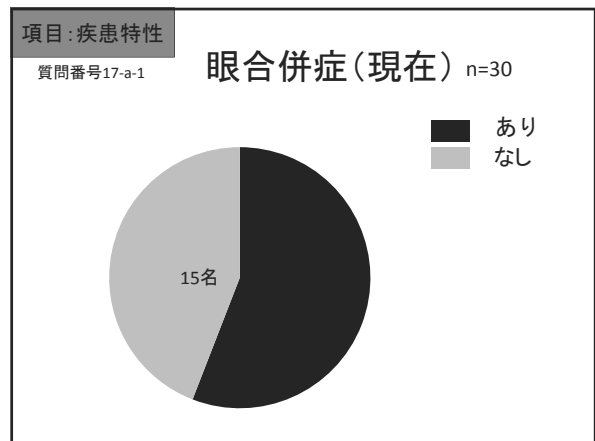
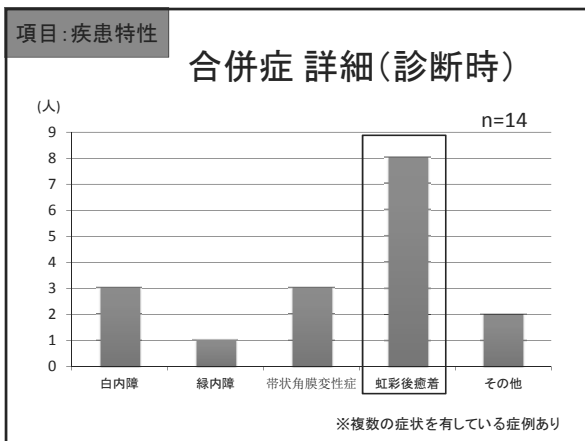
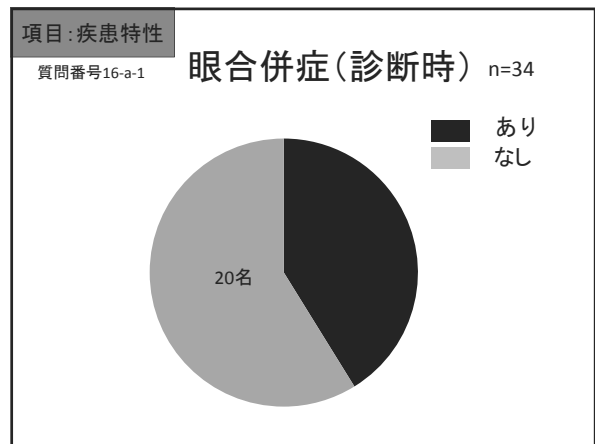
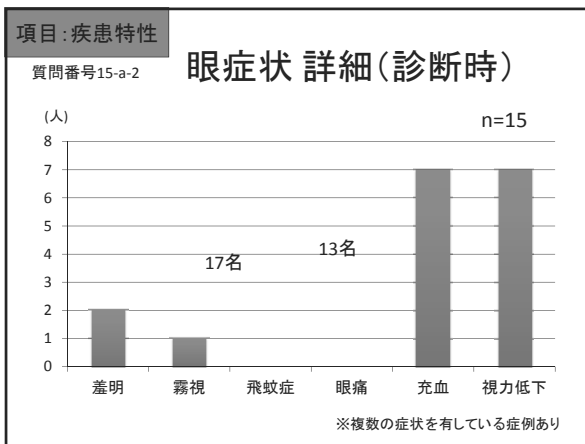
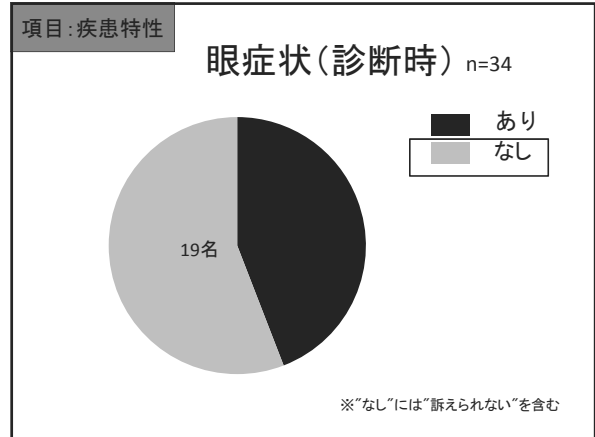
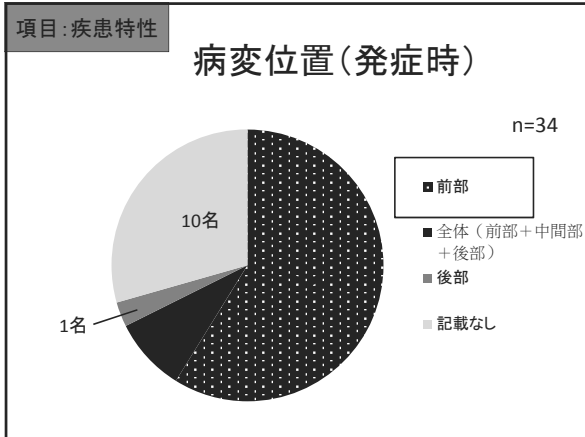
性別

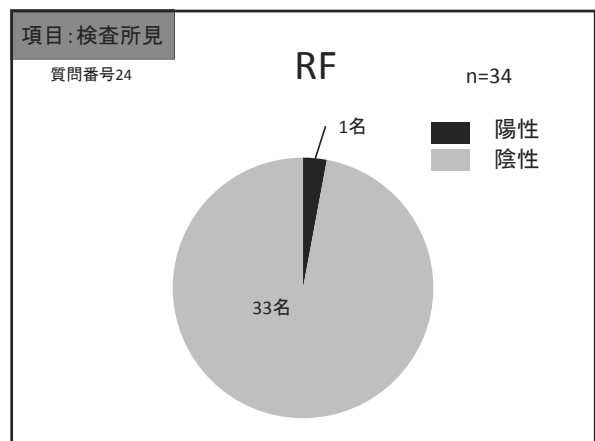
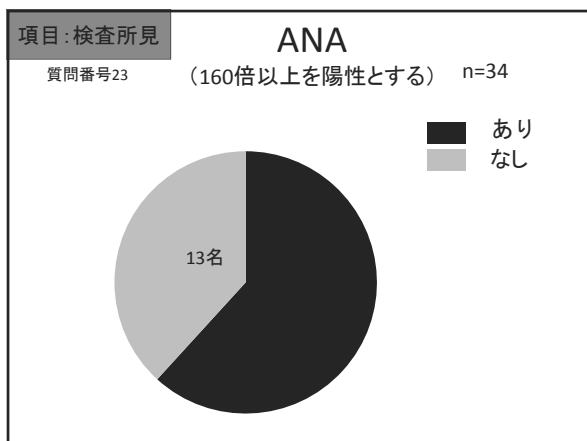
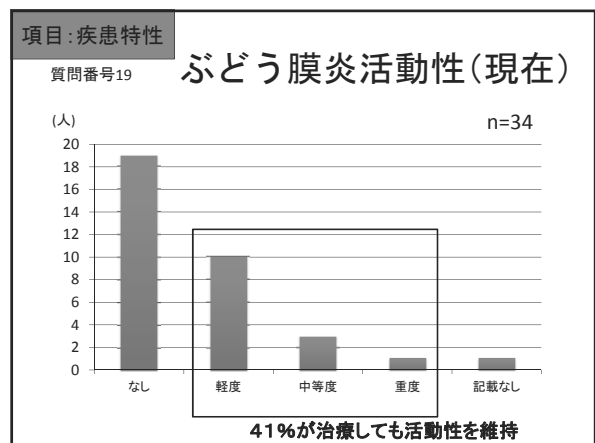
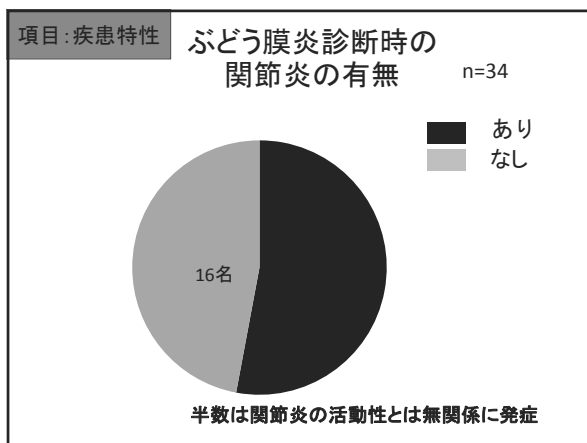
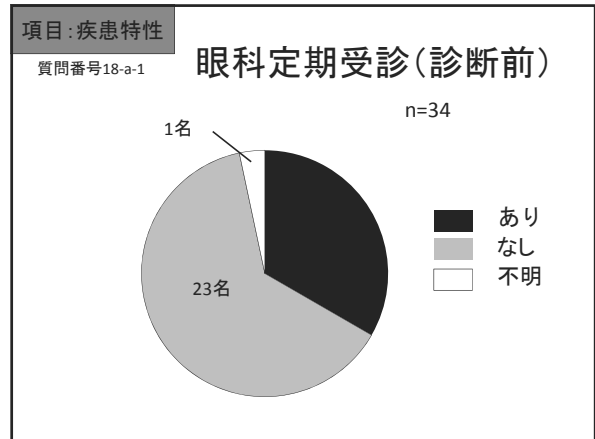
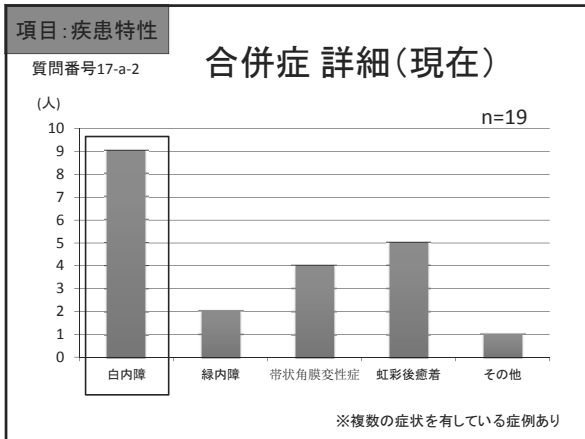


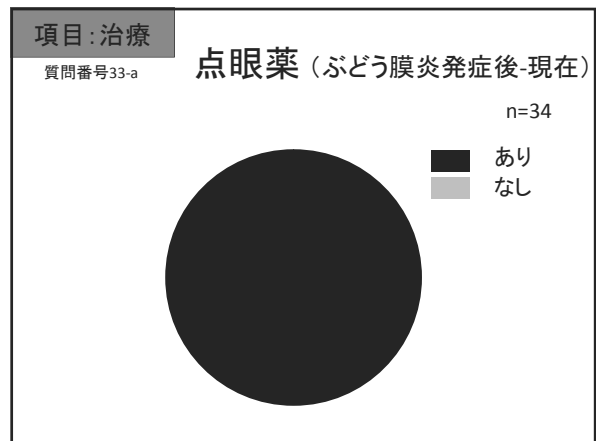
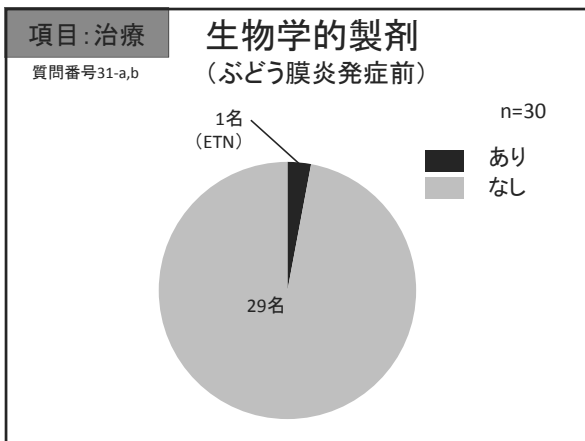
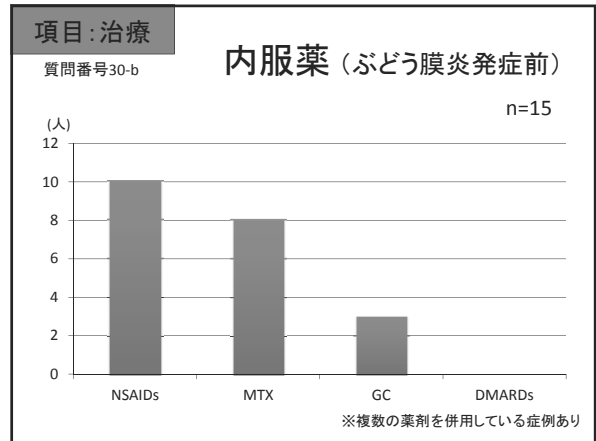
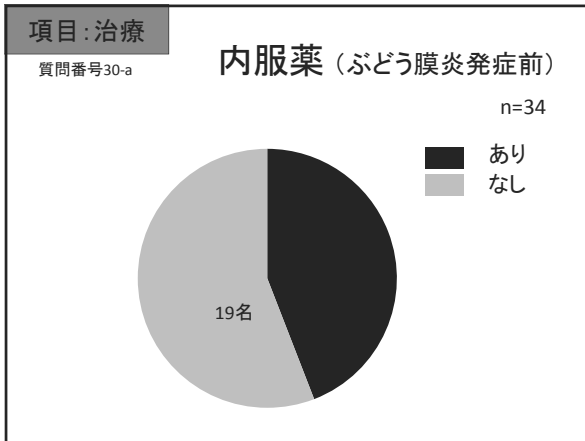
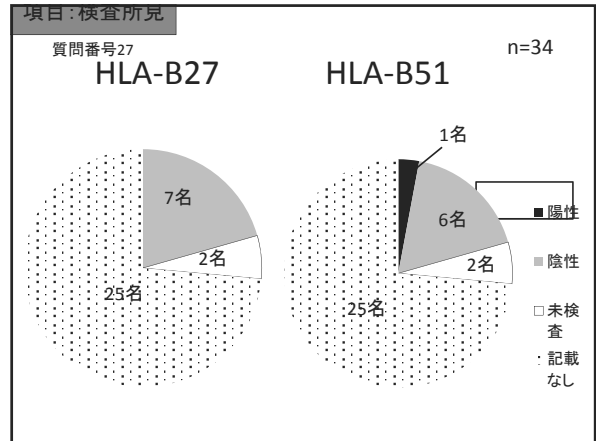
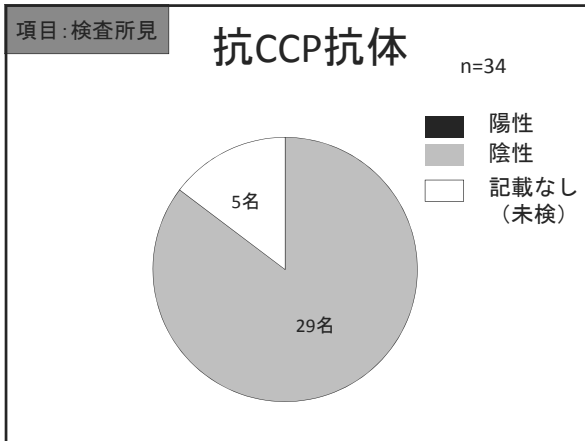
ぶどう膜炎の家族歴

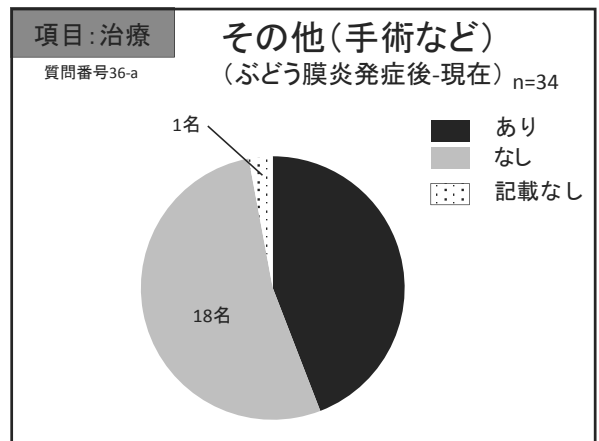
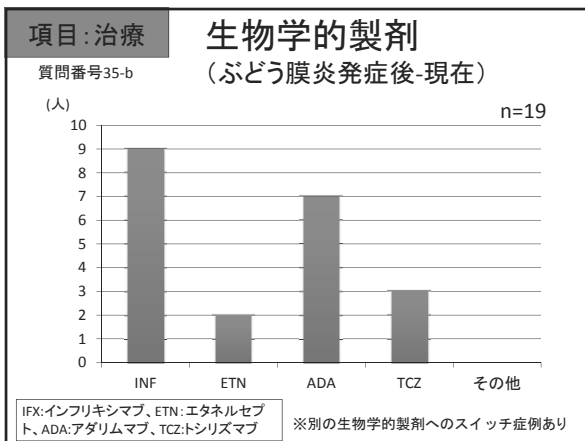
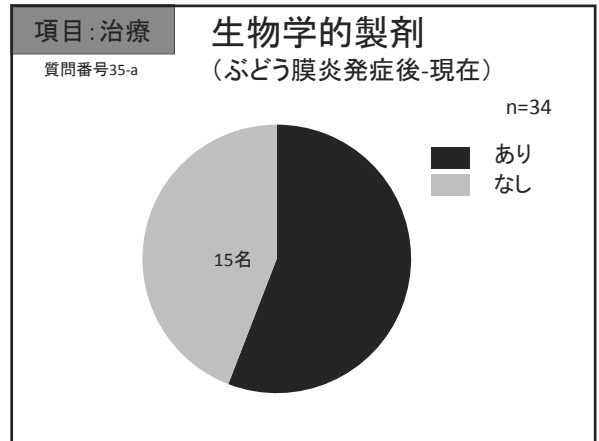
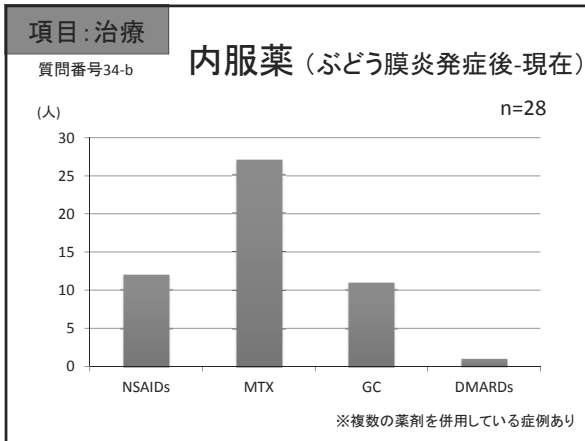
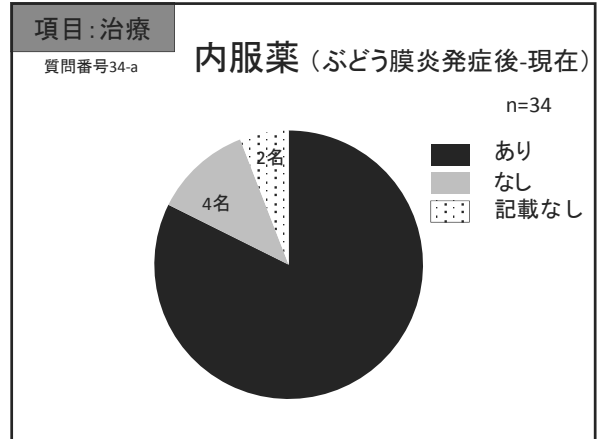
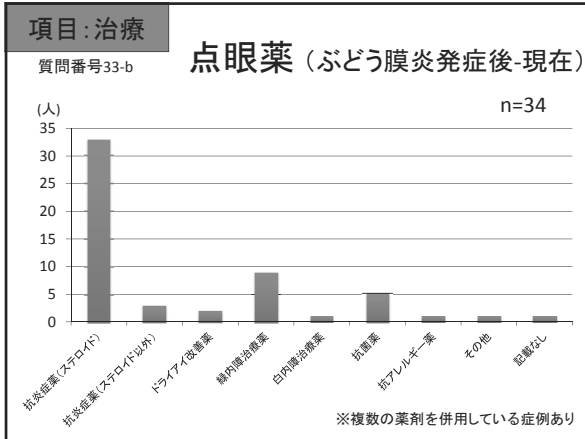












項目:治療

その他(手術など)

質問番号36-b

(ぶどう膜炎発症後-現在) n=15

- 1 帯状角膜炎除去術
- 2 トリアムシロン注射
- 3 超音波乳化吸引術(PEA)+後房型有水晶体眼内レンズ(IOL)
- 4 PEA+IOL→癒着解除、虹彩切除術
- 5 右PEA+IOL、左トラベキュlectミー
- 6 右PEA+IOL+前部硝子体切除(A-vit)
- 7 両側PEA+IOL、DEX眼内注射
- 8 左PEA+A-vit
- 9 左緑内障開放+PEA+IOL
- 10 左PEA+IOL
- 11 左PEA+IOL
- 13 角膜輪部水晶体+A-vit
- 14 帯状角膜炎除去術
- 15 水晶体再建術

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）
研究課題：若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・
重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定
に関する研究（課題番号：H27-難治等(難)-一般-029）

小児 SLE の診療の手引きの作成に関する研究

研究分担者： 鹿児島大学医学部保健学科 教授 武井 修治

研究要旨

小児 SLE は SLE 全体の 15-17%を占め、成人例と比べてもその病態はより重篤・急性なばかりか、副腎皮質ステロイド薬による成長障害など小児に特有な副作用がある。しかしながら小児 SLE の診療経験の豊富な小児科医は極めて少ないため、専門性の高い医療を均一に提供するための診療ガイドラインが求められていた。しかし、成人領域においても包括的な SLE 診療ガイドラインは存在せず、2010 年に腎や神経精神ループスに限定したガイドライン/recommendation が発表されたものの、小児 SLE を対象とした診療ガイドラインはない。

そこで、本邦での 2 回の小児 SLE 全国調査で判明した予後の改善に関連した治療情報や、小児 SLE を対象とした内外の文献を収集し、小児科専門医を対象とした小児 SLE の診療の手引きの作成を試みた。しかしながら収集した文献には前向き研究など evidence レベルの高い報告は極めて少なく、後ろ向きの症例集積研究などが主体であった。そこでまずは収集した研究情報を元に素案を作成し、6 名の小児 SLE のエキスパートによる討議を繰り返しながら、小児 SLE 診療の手引きとしてまとめた。

診療の手引きでは、臓器障害の軽重やリスクをもとに重症度分類を規定し、重症度に従った寛解導入療法、寛解維持療法に分けて記載した。また診療手順を 3 ステップに分け、それぞれの段階で必要な検査やその目的を述べた。また日常生活について記載し、予防接種や妊娠分娩での注意点なども掲載した。

Key Words：全身性エリテマトーデス、小児、診療の手引き、診断、治療

研究協力者

伊藤保彦(日本医科大学小児科 教授)、五十嵐徹(日本医科大学小児科 講師)、山口賢一(聖路加国際病院リウマチ膠原病センター 医長)、山崎和子(埼玉医科大学総合医療センター小児科 講師)、久保田知洋(鹿児島大学病院小児科 医員)、新井達(聖路加国際病院皮膚科 部長)

A. 研究目的と背景

全身性エリテマトーデス systemic lupus erythematosus (SLE)は自己免疫疾患の代表的な疾患であり、特徴的な皮疹のみならず、腎や中枢神経系に多様な臓器障害を引き起こす全身性難治性疾患である。SLE のうち、16 歳未満の小児期に発症する SLE

(小児 SLE)は SLE 全体の 15-17%を占め、成人例と比べるとその病態をより重篤で、臨床経過もより急性である。また、SLE の治療薬には、成人にない副作用(成長障害)や薬理代謝の違いがあるため、小児 SLE の診療には小児特有の高い専門性が求められる。

しかしながら、本邦における小児リウマチ専門医は約 60 名と少なく(平成 26 年度)、また専門医の勤務する小児医療機関は、特定の地域に偏在している。その結果、本邦の小児 SLE の多くは、腎、神経、感染症、免疫、アレルギー等に専門性を持つ小児科専門医や、成人のリウマチ専門医によって診療されているのが現状である。

その一方で、小児リウマチ専門施設を中心に、小児 SLE の治療において免疫抑制薬の積極的な併用が進められ、その累積 10 年生存率は 2005 年の全国調査では 93.8%まで改善した¹⁾。しかし永続的な臓器障害を抱えた 10 年累積生存率は 73.5%に過ぎず、約 1/4 は永続的な障害を抱えて生存していた。

これらの状況から、より高度な専門医療をより均一に提供する方法として、小児 SLE に対する診療ガイドライン作成の必要性が再確認された。しかし多様な病態・臨床像をもつ SLE では、成人領域においても包括的な診療ガイドラインは現在でも存在せず、ようやくループス腎炎や神経精神ループスに対する診療ガイドラインが European League Against Rheumatism (EULAR)や American College of Rheumatology (ACR)から 2010 年に発表されたのみである。このような成人 SLE の状況を鑑み、更に

evidence 少ない小児 SLE では Minds に準拠した診療ガイドラインを策定することは極めて困難と思われた。そこで、可能な限り evidence の高い文献を収集し、良質な expert opinion を盛り込んだ小児 SLE の診療の手引きを作成することを目的とした。

B. 研究方法

小児 SLE の診療経験が豊富で、小児 SLE に対する臨床研究を行っている小児リウマチ医 5 名を小児 SLE 診療の手引き作成委員として依頼した。また腎が SLE の主要な臓器障害であることから、作成委員 5 名のうち 2 名は小児腎専門医である。また皮疹については皮膚科医 1 名の協力を仰いだ。

作成の基盤となる小児 SLE における医療情報は、本邦で行われた 2 つの全国調査から収集した。一つは 1980 年~1994 年に発症した小児 SLE を対象とした全国調査と、もう一つは 1995 年~2006 年に発症した小児 SLE を対象とした全国調査であり、2 つの全国調査を比較して、予後改善と関連した治療を解析した。

文献は、PubMed を用いて小児 SLE の臨床像、病態、治療、予後に関連する文献を、作成委員で分担して可能な限り収集した。以上の情報を集約し、narrative な診療の手引きのドラフト素案を作成した。またこの素案は、分担班会議を 5 回開催して作成委員同士で素案に対する意見交換や決定を行い、メール会議等を介して、その削除修正を繰り返した。

C. 研究結果

1. 作成までの経緯(図 1)

小児 SLE を対象とした 2 つの全国調査で得られた情報は、小児期のリウマチ膠原病の難治性病態の診断と治療に関する研究班 ((2008 年~2010 年、主任研究者：横田俊平) で整理され、本手引きの基盤となった。ただ、SLE の治療薬として極めて重要なミコフェノール酸モフェチル mycophenolate mofetil (MMF) と hydroxychloroquine

(HCQ) の 2 製剤に対する保険適応は本邦では認められていなかった。しかし、この研究班の最終年である 2010 年に、欧州リウマチ学会 European League Against Rheumatism (EULAR) が神経精神ループス、European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) と共同してループス腎炎、また同じ 2010 年に米国リウマチ学会 American College of Rheumatology (ACR) がループス腎炎診療ガイドラインを公表し、MMF と HCQ の位置づけが明確に示された。その結果、本邦でも公知申請に向けた動きが加速したが、作成した小児 SLE の診療の手引きの中で MMF と HCQ の位置づけを明確に記載できないため、両製剤の保険適応の動きを見守ることになった。

その後、2015 年に小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態の診断と治療に関する研究班 (2015 年~2016 年、主任研究者・森雅亮) が組織され、同じ 2015 年にこの 2 製剤は本邦でも保険適応を取得し、診療の手引きの完成に向けた作業が進められた。

2. 構成

手引きを構成する項目を表 1 に示す。

小児 SLE の病態や特徴、2 つの全国調査の成績、小児リウマチ医療の現状などを説明し、本手引きが作られた背景を概略した。

また、収集された論文の全てが小児 SLE を対象とした研究ではなく、また小児 SLE を対象とした研究であってもその多くが症例集積研究など、必ずしもエビデンスレベルの高い論文ではなかった。したがって、収集した論文の情報を小児 SLE 診療のエキスパートである作成委員が判断・検討し、この手引きに反映させたことを説明して、本手引きの使い方の注意を喚起した。

3. 小児 SLE 診療の手引き

1) 診療の手順と必要な検査

小児 SLE の診療の手順を、step 1 から step 3 に分けて記載した(表 2)。またこのステップを踏むことによって、治療開始時に必要な重症度分類が出来るよう、それぞれの step で実施すべき検査や、治療開始までに行う検査の意味づけを示した (表 3)。

診断については、従来の小児 SLE の分類基準のみならず、2014 年に発表された SLICC 分類診断を記載した。また、皮疹は診断の契機となる重要な所見であり、SLICC 分類基準では多様な皮疹が組み込まれたことから、appendix 1 の中で画像を用いて皮疹への説明を強化した。

2) 治療

小児 SLE の治療において、最も重要な目標は、臓器障害の発生抑止、あるいはその進行抑止である。そこで小児 SLE の重症度分類は、予後からみた臓器障害の軽重と発生リスクで規定し、低リスク群、中程度リスク群、高リスク群の 3 群に分けた。また、初期治療はこれらの重症度(リスク)に応じた治療を選択する方式とした。また、リスクに応じた寛解導入療法と寛解維持療法をそれぞれ記載した。

治療薬についても、投与対象の重症度(リ

スク群)を記載するとともに、SLE の病態 (SLE,ループス腎炎、ネフローゼ症候群) 別の保険適応も記載して便宜を図った(表 4)。

3) 長期寛解期の治療と日常生活
寛解病態の評価指標を記載する共に、長期経過の副作用についての記載を行った。また、日常生活上の注意点、予防接種、妊娠と分娩に関する情報を記載した。

4. 今後の方針

この診療の手引きは、日本小児リウマチ学会での承認を得た後、日本小児科学会、日本リウマチ学会でのパブリックコメントを得る予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) Wakiguchi H, Takei S, Kubota T, Miyazono A, Kawano Y. Treatable renal disease in children with silent lupus nephritis detected by baseline biopsy; association with serum C3 levels. Clin Rheumatol 2016, Epub ahead of print.

2) Hara R, Miyazawa H, Nishimura K, Momoi T, Nozawa T, Kikuchi M, Sakurai N, Kizawa T, Shimamura S, Yasuda S, Hiromura K, Sada KE, Kawaguchi Y, Tamura N, Takei S, Takasaki Y, Atsumi T, Mori M. A national survey on current use of mycophenolate mofetil for childhood-onset systemic lupus erythematosus in Japan. Mod Rheumatol 2015, 25: 858-864.

3) Yasuda S, Atsumi T, Shimamura S, Ono K, Hiromura K, Sada K, Mori M, Takei S, Kawaguchi Y, Tamura N, Takasaki Y. Surveillance for the use of mycophenolate

mofetil for adult patients with lupus nephritis in Japan. Mod Rheumatol 2015, 25: 854-857.

4) Kobayashi I, Mori M, Yamaguchi KI, Ito S, Iwata N, Masunaga K, Shimojo N, Ariga T, Okada K, Takei S. Pediatric Rheumatology Association of Japan recommendation for vaccination in pediatric rheumatic diseases. Mod Rheumatol 2015, 25: 335-343.

2. 学会発表

なし

F 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

表1:小児SLE診療の手引き2017の構成

緒言

I. 小児SLE診療の手引きの成り立ち

1. 小児SLEの病態と特徴
2. 全国調査の成績と治療目標の変遷
3. 小児リウマチ医療の現状
4. 小児SLE診療の手引き2017の使い方(限界)
文献

II. 小児SLE診療の手引き

1. 診断と病態把握
 - 1-1. 診断(第一段階)
Appendix 1 (小児SLEの皮疹)
 - 1-2. 病態及び疾患活動性評価(第二段階)
 - 1-3. 治療開始前のベースライン評価(第三段階)
文献

2. 治療施設の検討
文献

3. 治療

- 3-1. 治療目標
- 3-2. 初期治療の重要性
- 3-3. 重症度分類
低リスク群
中程度リスク群
高リスク群
Appendix 2
その他の注意点
- 3-4. 臓器障害リスク群の治療
 - a) 低リスク群の治療
 - ・寛解導入
 - ・寛解維持
 - b) 中等度リスク群の治療
 - ・寛解導入
 - ・寛解維持

3. 治療(つづき)

- 3-4. 臓器障害リスク群の治療(つづき)
 - c) 高度リスク群の治療
 - ・寛解導入
 - ・寛解維持
 - d) 併用薬
補足1 HCQ
補足1 メチルプレドニゾンパルス療法
補足3 MMF
補足4 IVCY

文献

- 3-5. 合併症の治療
 - a) 短期効果の指標
 - b) 長期効果の指標
 - c) 疾患活動性指標の使い方
- 3-6. 合併症の治療
 - a) 抗リン脂質抗体症候群
 - b) シェーグレン症候群
 - c) TMA

文献 Appendix 3

4. 寛解期の診療

- 4-1. 治療目標
- 4-2. 寛解病態の評価指標
 - a) 臨床症状
 - b) 検査所見
- 4-3. 副作用の評価
文献

5. 診療手順

6. 患者とその家族への説明.

- 6-1. 日常生活
- 6-2. 予防接種
- 6-3. 妊娠と分娩
- 6-4. 患児と家族支援
文献

表2:小児SLEの診療の手順

Step 1 : 診断

小児SLE分類基準の確認(表1)

鑑別及び併発膠原病の確認

各種自己抗体の検索

抗SS-A/Ro抗体, 抗SS-B/La抗体, 抗RNP抗体, 抗SC 1 -70抗体, など

必要に応じて小唾液腺生検, 唾液腺造影, Schirmerテスト, Saxonテスト

Step 2 : 臓器障害と疾患活動性評価

臓器障害の評価

中枢神経系: 頭部MRIまたはCT, 脳波, 脳血流シンチグラフィ (SPECT)

腎: 尿所見, 腎生検, 腎機能評価, 尿細管機能評価

呼吸器: 胸部X線写真, 胸部CT, 呼吸機能, KL-6

循環器: 心電図, 心臓超音波検査

視覚器: 眼底, 細隙灯, 涙腺機能

末梢循環: サーモグラフィ

疾患活動性(重症度) 評価

血清補体値, 抗dsDNA抗体, 尿蛋白, ESR,

SLEDAI(表3)やBILAGによる疾患活動性(重症度)の総合評価

Step 3 : 治療開始後に向けた, 副作用や合併症のベースライン評価

骨評価: 骨塩量, 骨代謝マーカー, 大腿骨頭部MRI,

眼科検診: 眼圧, 白内障チェック

成長評価: 身長, 体重, 体脂肪

その他: 頸動脈超音波 (動脈硬化), 脂質

表3: 治療開始までに必要な検査

必要/有用な検査	意味づけ	参考事項
1) 診断・鑑別診断		
抗核抗体	診断項目11	・抗核抗体が陰性の場合、SLEは否定的である。 ・低力価の抗核抗体は健康小児でもみられることに留意する(ANA80倍(20%)、160倍(13%))。
抗dsDNA抗体	診断項目10	・本邦で多用されているELISAは、診断基準の標準手技(Farr)より感度が高いが特異性が劣る。
抗Sm抗体	診断基準10	・陽性率20-30%と感度は低いが、特異性が高い。
末梢血	診断項目9	
凝固検査	抗カルジオリピン抗体症候群、DICのscreening	・APTTの延長があれば抗リン脂質抗体症候群の合併を考慮(Appendix-3参照)。線溶系の検査としてFDP, TAT, Fibrinogenも重要。
尿一般、沈査、蛋白定量)	診断項目7	・尿蛋白陰性でも、細胞円柱を検出することがある。
補体	診断項目12	・C3, C4, CH50の低値は発症初期からみられ、診断や病態把握に有用。
抗カルディオリピン抗体(IgG/IgM)、 β2GPI	診断項目10	・血栓症の有無の精査(Appendix-3参照)
赤沈、CRP	除外診断、併発感染症スクリーニング	・赤沈: 全例で亢進。正常ならSLEを否定又はDICを合併。 ・CRP: SLEによる漿膜炎、髄膜炎がある場合のみ増加。それ以外で増加した場合は、感染症の存在を考慮する。
心エコー、心電図、胸部Xp	診断項目6	
抗SS-A/B抗体、RF、唾液腺シンチ/MRI、小唾液腺生検	シェーグレン症候群合併	・環状紅斑や著明な倦怠感がある場合。初期には乾燥症状はまれ。
抗RNP抗体、抗Scl-70抗体	MCTDとの鑑別	・レイノー症状や指のソーセージ腫脹を伴う。

表3: 治療開始までに必要な検査(続き)

2) 病態、合併病態評価

生化学検査	肝、腎、膵の機能評価	・AST, ALT, LD(肝), BUN、Creatinine、電解質、尿中β2MG(腎), アミラーゼ(膵)
腎生検	腎病理組織像	・国際分類による評価は、治療方針決定に必須情報
頭部MRI, 脳血流シンチ、EEG	NP-SLE病態	・精神症状があれば、抗リボソームP抗体を追加(Appendix-2参照)。
免疫グロブリン	免疫病態評価	
眼底検査、細隙灯	眼病態評価	・網膜血管炎、ぶどう膜炎
呼吸機能検査、KL-6	間質性肺炎	・呼吸機能検査では、CO拡散能の感度が高い。
甲状腺機能(TSH, T3, T4)	甲状腺疾患	
クームス検査	自己免疫性溶血性貧血	・貧血がある場合
抗平滑筋抗体等	自己免疫性肝炎	

3) 副作用評価のためのベースライン評価

身長・体重・体脂肪	成長障害の監視	
骨塩量(DEXA)、骨代謝マーカー	骨粗鬆症の監視	・ビスフォスフォネート製剤の適応
頚動脈エコー、血清脂質	動脈硬化の監視	
眼科検診	白内障、緑内障監視	

表4：小児SLEにおける免疫抑制薬の適応、投与量

薬剤		適応病態		一日投与量	有効血中濃度	小児SLEでの 保険適応		
		障害risk	病態			SLE	LN	NS
Mizoribine	MZR	軽度	・ Class II 腎炎(寛解維持)	2-4mg/kg/日 (分1～分3)	分1：ピーク値1μg/ml	×	○	○
Azathioprine	AZP	軽度～中等度	・ Class III、IV 腎炎(寛解維持) ・ ステロイドsparing効果	1-3mg/kg/日 (Max 150mg/日)		○	○	×
Cyclosporin A	CYA	中等度～重度	・ Class V 腎炎(寛解導入) ・ Class III,IV, V 腎炎(寛解維持) ・ ステロイドsparing効果 ・ MAS	1.5-5mg/kg/day (分1又は分2)	分1：ピーク値400-700μg/ml 分2：トラフ値 50-100μg/ml	×	×	○
Tacrolimus	TAC	中等度～重度	・ Class V 腎炎(寛解導入) ・ Class III,IV, V 腎炎(寛解維持) ・ ステロイドsparing	0.05-0.15 mg/kg/日 (分1)	トラフ値：3～5 (～8)ng/ml	×	×	×
Mycophenolate mofetil	MMF	中等度～重度	・ Class III, IV, V 腎炎(寛解導入) ・ Class II～V 腎炎(寛解維持) ・ IVCY不応例 ・ ステロイドsparing効果	1g/m ² /日(分2) または 0.5～2 g/day(成人)		×	○	×
Intravenous cyclophosphamide pulse therapy	IVCY	中等度～重度	・ Class III, IV, V 腎炎(寛解導入) ・ NP-SLE ・ 肺出血(血管炎) ・ 劇症APS	500mg*/m ² 6回/月1回→2回/3か月毎 (最大6回) *増量可能(最大750mg)		○	○	×
Hydroxychloroquine	HCQ	軽度～中等度	・ 皮疹、倦怠感 ・ ステロイドsparing効果 ・ 再発抑制	理想体重に応じて 200～400mg/日(分1)		○	○	×

MAS:マクローファージ活性化症候群、LN：ループス腎炎、NS：ネフローゼ症候群、NP-SLE：神経精神症状SLE、APS；抗リン脂質抗体症候群

1994年 小児膠原病全国調査(主任研究者:藤川 敏)、
分担研究:本邦の小児SLEの臨床像と予後(武井修治)

1995年 小児SLE全国調査
1980~1994発症例'80-94Survey

2008年小児SLE全国調査
1995~2006発症例'95-06 Survey

2008~2010年厚労科研:
小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態の診断と治療
に関する研究(横田俊平)
分担研究:小児SLEの難治性病態と治療に関する研究
(武井修治)

小児リウマチ性疾患
調査検討小委員会
2011~2014年
委員長 横田俊平
2015~
委員長 武井修治

2015~2016厚労科研:
JIAを主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・重症度分
類の標準化とエビデンスに基づいた診療ガイドラインの
策定に関する研究(森 雅亮)
・SLE分担班(武井修治)

特定疾患治療研究班

2014~2016年厚労科研
自己免疫性疾患に関する調
査研究(住田孝之)
・SLE分担班(渥美達也)

図1:小児SLE診療の手引き2017—作成の経緯

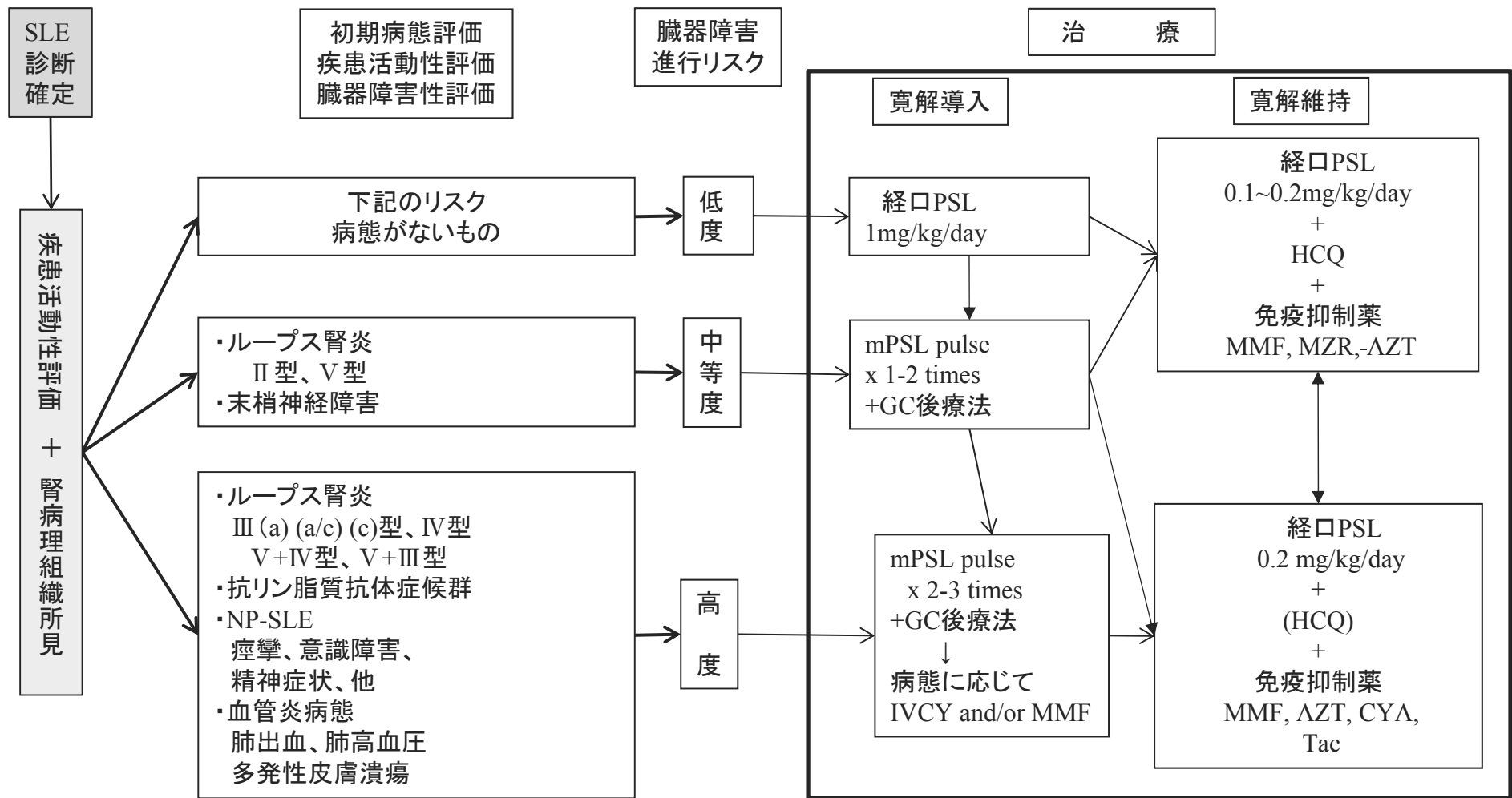


図2: 小児SLEの治療手順診断確定後、疾患活動性の評価や薬効評価のための検査を行い、速やかに治療を開始する。腎生検は安全性を優先して、治療開始後の安定した時期に行う。内服PSL0.2mg/kg/day以下で寛解維持できない例、再燃反復例ではリスクを一つ上げた治療を行う。腎炎例、抗リン脂質抗体症候群では、抗凝固療法を併用する。IVCYとMMFの使い分けは本文で示すが、ClassV腎炎の場合はMMFが用いられる。mPSLやIVCYの実際は本文8~9頁と補2、補足4に記載した。

NP-SLE;神経精神ループス、PSL:プレドニゾロン、mPSL pulse:メチルプレドニゾロンパルス療法、GC:グルココルチコイド、IVCY:経静脈シクロフォスファミドパルス療法、MMF:ミコフェノレート酸モフェチル、MZR:ミゾリビン、AZT:アザチオプリン、HCQ:ハイドロキシクロロキン、CYA:シクロスポリンA、Tac:タクロリムス

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）
研究課題：若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・
重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定
に関する研究（課題番号：H27-難治等(難)一般-029）

若年性皮膚筋炎（JDM）の診療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者：北海道大学大学院医学研究科生殖発達医学分野小児科学 客員教授 小林 一郎

研究要旨

若年性皮膚筋炎（JDM）は特徴的な皮疹を伴う炎症性筋疾患である。小児人口 10 万人あたり 1.74 と比較的まれな疾患であるが、その死亡率は SLE や JIA を凌ぎ、その死因の多くは急速進行性間質性肺炎であることが明らかにされた。一方、従来用いられている皮膚筋炎の診断基準は診断・検査法の進歩に十分対応していないことが指摘されている。2012 年 8 月に International Myositis Classification Criteria Project (IMCCP) から IIM (Idiopathic inflammatory myopathy) の国際診断基準案 (IMCCP 案) が公表された。また、近年、筋炎特異的自己抗体による臨床像の違いも報告されている。

以上を踏まえ本分担班においては、①新たな IMCCP 基準の国内小児例を対象とした validation と、国際的比較に耐えうる診断ガイドライン作成②間質性肺炎合併例における予後因子の検討、③診断治療の手引き作成、④筋炎特異的自己抗体による JDM の細分類の提案、⑤検体保管と測定ネットワーク構築を課題とした。平成 28 年度は新診断基準の validation、間質性肺炎合併例の CT 像および病理像の検討ならびに診断の手引き作成を行い、また筋炎特異的自己抗体測定のための班員施設における倫理委員会申請を行っている。

1 研究目的

若年性皮膚筋炎（JDM）は特徴的な皮疹を伴う炎症性筋疾患である。小児人口 10 万人あたり 1.74 と比較的まれな疾患であるが、その死亡率は SLE や JIA を凌ぐことがこれまでの研究で明らかとなった(厚生労働省科学研究費 H20-免疫一般-008。研究代表者 横田俊平)。さらに同研究で、その死因の多くは急速進行性間質性肺炎であることも明らかにされた。一方、その診断基準としては Bohan and Peter の診断基準 (1975 年) あるいは 1992 年に厚生省自

己免疫疾患調査研究班の診断基準(1992 年)が用いられているが、これらの基準は診断・検査法の進歩に十分対応していないことが指摘されている。2012 年 8 月に International Myositis Classification Criteria Project (IMCCP) から IIM (Idiopathic inflammatory myopathy) の国際診断基準案 (IMCCP 案) が公表された。IIM には成人 PM/DM のみならず JDM も含まれており、小児例の解析も行われているが、本邦では新規の本診断基準が適合しうるか、まだ不明である。また、近年、筋炎特異的自

己抗体による臨床像の違いも報告されている。

以上を踏まえ本分担班においては、以下の4点を目的とした。

- ① 新たな基準の国内症例を対象とした Validation と、国際的比較に耐えうる診断ガイドライン作成
- ② 間質性肺炎合併例における予後因子の検討
- ③ 診断治療の手引き作成
- ④ 筋炎特異的自己抗体による JDM の細分類の提案。

これらの達成を通して、研究班全体の目的である検体保管と測定ネットワーク構築、日本リウマチ学会、日本小児リウマチ学会と本研究のプロダクトを共有し連携体制を密接に取り、患者および保護者を庇護する医療的ネットワークの構築を図る。

2 研究方法

平成28年度は、前年度に作成したロードマップに従い、以下の検討を行った。

- ① 国内症例を用いた IMCCP 分類基準の Validation：班員施設から倫理委員会承認の下に臨床情報を収集し、IMCCP 基準項目に即して会議にて合意形成を行う。
- ② 間質性肺炎合併症例の検討：班員施設の倫理委員会承認の下に収集された患者肺 CT 画像を放射線診断の専門家と検討する。検討内容は過去の成人皮膚筋炎合併間質性肺炎関連論文のレビューより、病変の領域、分布、画像パターン、広がり、および治療反応性とした。また同じ

く班員施設の肺生検および剖検組織を肺病理専門家のもとで検討する。

- ③ 筋炎特異的自己抗体による JDM 再分類の試み：中心となって行う信州大学倫理委員会で承認されており、これをもとに各施設倫理委員会申請中である。今後、日本医科大学アレルギーリウマチ内科の協力を得て、班員施設から患者血清を収集し、自己抗体を測定する。また、患者臨床情報を既に作成した2次調査票をもとに収集し、自己抗体との関連を検討する。
- ④ 診断手引きの作成：班員が分担して手引きを作成し、日本小児リウマチ学会ならびに日本リウマチ学会へのパブリックコメントを募集の上、最終版を作成する。

(倫理面への配慮)

(1) 「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則して、研究を行う。研究内容は、研究代表者および分担研究者の施設での倫理審査の承認後、診療録の後方視学的解析および患者あるいは保護者の同意済の保存血清を使用する。各施設で貼付するポスターに記載する等して倫理的配慮を行っていく。

(2) 個人情報の保護に関する法律(平成15年5月法律第57号)第50条の規定に沿い、得られた患者の情報は外部に一切漏れないように厳重に管理した。研究結果の公表に際しては、個人の特が不可能であるよう配慮した。

3 研究結果

- 1) IMCCP 国際診断基準の validation : 班員施設より 52 症例の臨床情報を収集し、分担班会議において 1 症例毎に詳細な検討を行った。現在、分担班会議で検討された結果を解析中である。今後成人症例における解析結果と合わせて、国際的に統一された成人および小児の皮膚筋炎の分類基準としてまとめて行く予定である。
- 2) 急速進行性間質性肺炎の診断と治療に関する研究 : 前回の研究班 (横田班) の結果を再確認した後に、各施設より持ち寄られた計 13 症例の臨床および検査所見、診断から治療までの時間的経過、診断時およびその後の検査、画像の推移、死亡例においては剖検所見、治療の介入時期と予後を検討した。前回の調査に比較して死亡例が 2 例と少なく、全体としてわずかな病変を呈する早期より強力な治療介入が行われている傾向が見られた。治療にはステロイド薬に加えシクロホスファミド静注、シクロスポリン、タクロリムス、ミコフェノール酸モフェチル、もしくはそれらの併用が行われていた。現在これらの時間的・量的違いや検査データの違いにつきデータの整理と解析を行っている。肺 CT の検討では、成人例同様に下肺野のスリガラス状陰影を呈する症例で急速進行性となる傾向が見られ、このような所見を呈しながら早期治療により治癒に至った症例も見られた。また、抗 ARS

抗体陽性で CT 上網状影を呈する症例では慢性的経過を取っており、これが成人例での報告と同様に考えて良いか、さらに詳細な検討が必要である。剖検および生検組織の病理学的検討では、死亡例の多くが肺胞壁に沿った硝子化を伴う DAD パターンを呈しており、初期に生じたと考えられる器質化とは別の、あるいは進展による変化と考えられた。こうした検討から、少なくとも一部の急速進行性間質性肺炎の症例では、早期介入により救命しうる可能性が示唆された。

- 3) 筋炎特異的自己抗体による JDM 再分類の試み : 班研究としての検討は、各施設倫理委員会での審査中であることから、実質的な結果を得るに至っていない。
- 4) 診断治療の手引き作成 : 前年度に作成した執筆分担案にしたがって各班員が作成、分担研究者の小林がまとめている。頻度の少ない疾患であり、海外文献を合わせてもエビデンスレベルの高い論文はほとんど存在しないことから、執筆に当たっては極力エビデンスに基づきながらも、実質的にはエキスパートによる合意に基づいた (Consensus-based) 診療の手引きとせざるを得なかった。また、病態・治療・予後などは成人 DM と共通する点と異なる点があることから、そうした点を明らかにするような記載としている。作成された手引きは、大きく一般医向けの初期診療用手引きと、専門医がリファレンス

にも用いることができる専門的内容の2つに分けられている。診療における基本方針として“原則として診断が疑われた段階で専門医に集約する”としながらも、一部の地域性等も考慮して非専門医でも専門医にコンサルとしながら診療に当たれるよう配慮しているのが特徴と言える。

4 評価

1) 達成度について

3年間の予定が2年間に短縮されたこともあり、予定されていた間質性肺炎のCT像・病理像の検討結果を今回の手引きに活かすことは出来なかった。今後の新規研究班成立時の課題としたい。また、新分類基準の validation が既に統計解析の段階に至っているにもかかわらず、IMCCP からはいまだに公表されていない状況である。今後、IMCCP からの報告ならびに成人領域との共同研究を経て、国際的に通用する診断基準を作成し、診療の手引きの改定や指定難病および小児慢性疾患特定疾患における診断基準として使用してゆく予定である。こうしたいくつかの問題点を残しながらも、現時点でのエビデンスをフルに活かし、かつ成人や海外と本邦小児例の違いに十分な配慮をした診療の手引きは既に原案が完成しており、日本リウマチ学会等のパブリックコメントを経て発刊できる段階に至っている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

JDM を新たな国際基準を用いて診断することは、本疾患の人種間比較や治療法確立に極めて有用である。また急速進行性間

質性肺炎はわが国に多く、そうした症例の検討はこの致死合併症の治療法確立に繋がるもので、この成果を国際的に共有することは非常に重要である。こうした合併症を含めた包括的かつ具体性のある診療の手引きを国内外に提示することは、今後の国際的共同研究による病態解明や、実地臨床における国民への還元などの点において大きな意義をもつ。

3) 今後の展望について

診療の手引きの普及により、JDM 診療の一般医と専門医の連携が容易となる。その結果、専門医への集約化によって短期および長期的予後の改善が期待され、子どもたちの医療・福祉の向上につながる。政策的には、新基準を指定難病および小児慢性疾患特定疾患共通の診断基準とすることで一括した政策的取り扱いが可能となり、診療の手引きによる治療の標準化は医療費の客観的評価を可能にする。

4) 研究内容の効率性について

今回分担班で掲げた研究内容をもとに、文献検索で蓄積されたデータを駆使して、各疾患の難病性病態の診断・治療ガイドラインを作成し、今後の病態解明に役立てることができるという点で、効率性も高い。

5 結論

本研究の最終目標は、JDM 診療の手引き作成である。平成 27 年度に策定したロードマップに基づき、ほぼ完成に近づいている。(パブリックコメント募集、関連学会での承認の段階)また、既に作成された IMCCP 診断基準日本語版を用いた調査は各施設倫理委員会承認のもとに集計され、現在統計解析の段階まで進んでいる。最大

の死因である間質性肺炎についても、症例の集積が行われ、現在臨床経過・検査所見・画像・治療法などにつき解析をし終えた。

今後、本分担班では 1) IMCCP 基準の我が国 JDM 症例おける validation と、それに基づく診断基準作成・普及、2) 間質性肺炎診療ガイドライン作成、3) JDM 診断の手引きの完成を行い、さらに引き続き 4) 筋炎特異的自己抗体による病型分類、予後の予測、および治療法確立を目指し、ほぼ目的を達成した。今後の新規研究班に継続していきたい。今回の研究班での研究成果により各難治性病態の新たな治療戦略が構築でき、その普及を図っていくことができれば、本研究班の意義は十分に発揮されることになるだろう。

6 研究発表

<学会発表>

1. 植木将弘, 小林一郎, 戸澤雄介, 竹崎俊一郎, 山田雅文, 桑名正隆, 有賀正: 当科における若年性皮膚筋炎患者での診断遅延例の検討 第 60 回日本リウマチ学会総会 (2016 年 4 月 21-24 日 横浜)
2. 小林一郎: 水痘・帯状疱疹とその予防 シンポジウム 9 臨床に役立つ感染症とリウマチ性疾患の関連 第 60 回日本リウマチ学会総会 (2016 年 4 月 21-24 日 横浜)
3. 小林一郎: 小児 SS は成人 SS の早期発症例か? ミニシンポジウム 小児と成人のシェーグレン症候群の対比について 第 25 回日本シェーグ

レン症候群学会学術集会 (2016 年 9 月 8-9 日 東京)

4. 小林一郎: 自己免疫疾患モデルとしての免疫不全症 シンポジウム “自己免疫疾患の発症機序” 第 26 回日本小児リウマチ学会総会 (2016 年 10 月 21-23 日 千葉)
5. 辻岡 孝郎 小林一郎 植木 将弘 戸澤 雄介 杉山 未奈子 竹崎 俊一郎 大島 淳二郎 井口 晶裕 山田 雅文 有賀 正; 骨関節痛を伴った急性白血病と若年性特発性関節炎の比較検討. 第 26 回日本小児リウマチ学会総会 (2016 年 10 月 21-23 日 千葉)
6. 寺田健作、針生珠海、佐藤逸美、加藤昌、恩田哲雄、寺下友佳代、古瀬優太、鈴木靖人、仲西正憲 鈴木諒太、大倉有加、小林一郎; 発症 3 年半後に診断した若年性皮膚筋炎・若年性特発性関節炎の overlap と考えられる一症例. 第 26 回日本小児リウマチ学会総会 (2016 年 10 月 21-23 日 千葉)
7. 大倉 有加 小林一郎 高橋 豊 戸澤雄介 植木将弘 竹崎俊一郎 山田雅文 有賀 正; 無菌性髄膜炎を合併したシェーグレン症候群 5 例の検討. 第 26 回日本小児リウマチ学会総会 (2016 年 10 月 21-23 日 千葉)

<論文>

1. 小林一郎 小児期発症皮膚筋炎-若

- 年性皮膚筋炎— 特集“慢性疾患患児の一生を診る” 小児内科2016; 48: 1672-5.
2. 小林一郎 水痘・帯状疱疹ウイルスとリウマチ性疾患 臨床免疫・アレルギー科 2016; 66: 454-9.
 3. Okura Y, Kobayashi I, Yamada M, Sasaki S, Yamada Y, Kamioka I, Kanai R, Takahashi Y, Ariga T. Clinical characteristics and genotype-phenotype correlations in C3 deficiency. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;137:640-644.
 4. Kobayashi I, Tozawa Y, Ueki M, Takezaki S, Watanabe S, Iwafuchi H, Yamada M, Kuwana M, Ariga T. Tacrolimus in combination with methotrexate and corticosteroid for the treatment of child-onset anti-SRP antibody-positive necrotizing myopathy. *Scand J Rheumatol* 2016
<http://dx.doi.org/10.1080/03009742.2016.1241297>
 5. Muramatsu K, Ujiie H, Yokozeki M, Tsukinaga I, Ito M, Shikano T, Suzuki A, Tozawa T, Kobayashi I. Recurrence of juvenile dermatomyositis 8 years after remission. *JAAD Case Reports* 2017;3:29-32.
 6. Nakakubo S, Sasaki D, Uetake K, Kobayashi I. Stroke during norovirus infection as the initial episode of antiphospholipid syndrome. *Global Pediatr Health* 2016; vol. 3, 2333794X15622771.
 7. Ueki M, Kobayashi I, Tozawa Y, Konishi S, Takezaki S, Okamoto T, Yamada M, Ariga T. Anasarca as the initial symptom in a Japanese girl with Sjögren syndrome. *Mod Rheumatol Case Reports*(in press.)
- 7 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
1)特許取得、2)実用新案登録とも、該当なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）
研究課題：若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・
重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定
に関する研究（課題番号：H27-難治等(難)一般-029）

小児期 Sjögren 症候群の診断基準・重症度分類の標準化と診療ガイドライン策定に関する研究
研究分担者：千葉県こども病院アレルギー・膠原病科 部長 富板美奈子

研究要旨

Sjögren 症候群(SS)は、**全身性の炎症性疾患**であり、外分泌腺の機能低下のみならず、様々な腺外臓器障害を認め、生命に関わるような重篤な臓器病変や QOL を著しく阻害する全身倦怠感なども出現する。SS は経過の個人差が大きく、腺障害、腺外臓器病変の出現時期やその重症度、進行速度も様々であり、また、特徴的とされる腺障害に対して免疫抑制療法の効果が十分でないことから、治療のスタンダードがない。これらの問題を解決するには、患者を早期に診断し、経時的に経過を観察することで、病因や悪化因子を発見し、早期治療介入につなげることが必要である。我々はこれまで、小児の SS 患者は成人の SS の早期病態を呈していることを報告してきた。小児の SS 患者を適切に診断し、フォローアップしていくことが SS の病態解明、ひいては治療・診療のスタンダードを作り上げていくことに寄与する。一方、小児期の患者でも重篤な臓器障害を呈する患者は少なくない。これらの患者の重症度評価を行い、治療反応性を評価していく必要がある。

本研究では①「小児期 Sjögren 症候群診断の手引き」の診断感度の解析 ②「小児期 Sjögren 症候群診療の手引き」の作成 ③ESSDAI を用いた小児期 SS 患者の重症度評価、を行った。gold standard となる症例として研究分担者の所属施設の主治医診断による小児 SS 症例を集積し、班員が一堂に会してこれらの症例の診断について検討し、41 例を SS とした。これらの症例を「診断の手引き」で判定したところ、最終観察時には definite 29 例、probable 2 例となった。経過中に possible や probable から definite に至る例もみられた。診断感度は definite 93%、probable 以上 100%であり、厚生省の改訂診断基準が 90%、ACR/EULAR の最新の分類基準では 83.8%と比較して最も高かった。また、他の診断基準では SS と診断分類されない例も possible や probable として SS の可能性を示せることは、患者フォローアップの上から重要と考えられた。これらの患者の臨床情報と文献をもとに、「小児期 SS 診療の手引き」を作成した。また、SS と診断した患者の ESSDAI を用いた重症度の検討では、初診時～6 か月に重症が 25%と高く、腺外症状で受診することが多い小児の特徴と考えられた。

A. 研究目的

Sjögren 症候群(SS)は、**全身性の炎症性疾患**であり、外分泌腺の機能低下のみならず、様々な腺外臓器障害を認め、生命に関わるような重篤な臓器病変や QOL を著しく阻害する全身倦怠感なども出現する。SS は経過の個人差が大きく、腺障害、腺外臓器病変の出現時期やその重症度、進行速度も様々であり、また、特徴的とされる腺障害に対して免疫抑制療法の効果が十

分でないことから、治療のスタンダードがない。これらの問題を解決するには、患者を早期に診断し、経時的に経過を観察することで、病因や悪化因子を発見し、早期治療介入につなげることが必要である。我々はこれまで、小児の SS 患者は成人の SS の早期病態を呈していることを報告してきた。従って小児の SS 患者を適切に診断し、フォローアップしていくことが SS の病態解明、ひいては治療・診療のスタンダ

ードを作り上げていくことに寄与する。一方、小児期の患者でも重篤な臓器障害を呈する患者は少なくない。これらの患者の重症度評価を行い、治療反応性を評価していく必要がある。

上記より、本研究では

- ①「小児期 Sjögren 症候群診断の手引き」の診断感度の解析
- ②「小児期 Sjögren 症候群診療の手引き」の作成
- ③ ESSDAI を用いた小児期 SS 患者の重症度評価を行う。

これらをもとに、SS の早期診断を可能とし、適切なフォローアップをするシステムを確立することを目的とする。

B. 研究方法

①患者情報の集積

研究分担者の所属施設の主治医診断による小児 SS 患者および非 SS 患者の情報を調査票を用いて集積した。診断の gold standard とするため、個々の SS 患者について、SS 診断の妥当性について研究分担者で検討した。全員の合意をもって SS と診断した。

SS と診断された症例を、「小児期シェーグレン症候群診断の手引き」にあてはめ、診断分類し、また、他の診断基準と比較した。

②診療の手引きの作成

患者情報および文献から、一般医を対象とした「小児期シェーグレン症候群 診療の手引き」を作成した。

③ESSDAI を用いた重症度評価

SS の重症度評価として国際的に使用されている ESSDAI 日本語版により、集積

症例の 1) 初診から 6 か月、2) 初診から 7 か月～1 年、の 2 期間の重症度を評価した。

(倫理面への配慮)

(1)「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則して、研究を行う。研究内容は、研究代表者および分担研究者の施設での倫理審査の承認後、診療録の後方視学的解析を行う。各施設で貼付するポスターに記載する等して倫理的配慮を行っていく。

(2)個人情報の保護に関する法律(平成15年5月法律第57号)第50条の規定に沿い、得られた患者の情報は外部に一切漏れないように厳重に管理した。研究結果の公表に際しては、個人の特が不可能であるよう配慮した。

C. 研究結果

①SS の診断

今回の調査では主治医診断による小児 SS 78 例のデータが集積された。これらの症例を研究分担者、研究協力者全員で診断の妥当性について検証した。全員の意見の一致をもって SS とし、41 例が SS と診断され、17 例が SS 疑いと判断された。

②「小児期シェーグレン症候群 診断の手引き」の診断感度

SS と診断した 41 例を「診断の手引き」および既存の 4 つの診断・分類基準で評価したところ、最終観察時の診断感度は「厚生省改訂診断基準(1999)」90.3%、

「European-American consensus croup 改訂分類基準(2002)」41.9%、「American College of Rheumatology 分類基準

(2012)」74.9%、「2016 ACR/EULAR 一次性シェーグレン症候群分類基準」83.9%となった。「診断の手引き」ではDefinite 93.5%、probable 以上100%となり、最も診断感度が高かった。

③診療の手引きの作成

集積した症例のデータと文献から、小児リウマチ膠原病の非専門医を対象とした、「小児期シェーグレン症候群 診療の手引き」を作成した。SSには、日本シェーグレン症候群学会が監修した「シェーグレン症候群診断・治療マニュアル」が市販されているため、病態や診断手技の詳細はそれを参考にすることとし、この「手引き」は非専門医に小児SSの存在を知らしめ、SS疑いの患者を見逃さないようにすること、適切な経過フォローができるようにすることを目的とした。今後、関連学会の承認を受け、何らかの形での出版を計画している。

③ESSDAIを用いた重症度評価

一次性SS症例36例について、初診から6か月まで、7か月から1年の期間でESSDAIを評価した。初診から半年の間のESSDAIは14点以上の重症が9例(25.0%)、5点～13点の中等症が19例(52.8%)、5点未満の軽症が8例(22.2%)であった。受診後7ヶ月から1年までの間のESSDAIは14点以上の重症が5例(13.9%)、5点～13点の中等症が17例(47.2%)、5点未満の軽症が14例(38.9%)であった。専門施設初診から半年の間のESSDAI陽性項目は、「健康状態」の項目が20例(55.6%)と最も頻度が高かった。臓器病変を有する例は、「腎病変」1例、「末梢神経障害」2例、「中枢神経障害」3例、「血液障害」4例であった。

初診時から6か月までの重症度が高いのは、小児の特徴と考えられた。初診から6か月の間で、ステロイド薬は10例(27.8%)に、免疫抑制薬は6例(16.7%)に使用されていた。これまで、小児期のSSの治療に関して客観的な指標を用いて解析された報告はなく、今後、標準的な治療法を構築していく上での有用なデータが得られた。

E. 研究発表

1) 国内

<論文>

・冨板美奈子: 小児期の Sjögren 症候群の診断と治療 小児科診療 78; 1115-1123, 2015.

・冨板美奈子: II. 全身性自己免疫疾患 小児科領域における自己免疫疾患(小児期発症型) Sjögren 症候群. 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ 免疫症候群-その他の免疫疾患を含めて-I 日本臨床社 874-879, 2015.

・冨板美奈子: Sjögren 症候群. 小児疾患診療のための病態生理 2 「小児内科」「小児外科」編集委員会共編 東京医学社 899-904, 2015.

・冨板美奈子: シェーグレン症候群. 小児慢性特定疾病—診断の手引き 日本小児科学会監修、国立成育医療研究センター小児慢性特定疾病情報室編、463-465, 2015

・冨板美奈子: 小児の特性を考慮した診断・分類基準はあるか? シェーグレン症候群 分子リウマチ治療 9, 53-56, 2016.

・冨板美奈子: 小児シェーグレン症候群を疑ったときの診断の進め方 小児科 57, 1045-1051, 2016.

<発表>

- ・冨板美奈子：小児期の Sjögren 症候群～臨床像と診断～ 第1回 中国・四国 女性リウマチ医の会 特別講演1 2015.6.21 松山
- ・冨板美奈子：小児期の Sjögren 症候群～早期診断と管理～ 第8回静岡小児膠原病・自己炎症性疾患研究会 特別講演 2015.7.25 静岡
- ・冨板美奈子：小児期のシェーグレン症候群：早期診断とフォローアップ 第14回東海小児リウマチ・膠原病研究会 特別講演 2016.2.13 名古屋
- ・冨板美奈子：小児期のシェーグレン症候群をどのように診断するか 第25回日本シェーグレン症候群学会 ミニシンポジウム 小児と成人のシェーグレン症候群の対比について 2016.9.9 東京
- ・冨板美奈子：小児期のシェーグレン症候群 第26回日本小児リウマチ学会総会・学術集会 会頭講演 2016.10.22 千葉

国外

<発表>

- ・Tomiita M, Malyavantham. M, Kobayashi I, Nonaka Y, Hoshioka A, Ambrus Jr. J.L.,

Suresh L, Novel Autoantibodies in Pediatric Sjögren' s Patients

13th International Sympojium on Sjögren' s syndrome. 2015. 5. 20, Bergen, Norway

- ・Tomiita M, Inoue Y, Arima T, Nakano T, Yamamoto K, Yamaide F, Kudo K, Yamaide A, Hoshioka A, Shimojo. N Long time follow-up of pediatric Sjögren' s syndrome: The rate of patients who developed other rheumatic diseases is not high. 13th International Sympojium on Sjögren' s syndrome. 2015. 5. 21, Bergen, Norway

F. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

- 1)特許取得、2)実用新案登録とも、該当なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業(難治性疾患政策研究事業)）
研究課題：若年性特発性関節炎を主とした小児リウマチ性疾患の診断基準・
重症度分類の標準化とエビデンスに基づいたガイドラインの策定
に関する研究（課題番号：H27-難治等(難)一般-029）

小児期発症難治性血管炎症候群の診療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者：愛媛大学大学院医学系研究科分子・機能領域小児科学講座 助教 中野直子

研究要旨

血管炎症候群は全身の動静脈に非特異的炎症を来し血管の形態異常およびその栄養血管に支配される臓器の障害を来す原因不明の疾患である。小児では川崎病と IgA 血管炎が最多であるが、いずれもセルフリミットな経過を辿ることが多い。一方で慢性に経過する小児期発症血管炎症候群は高安動脈炎（TA）と結節性多発動脈炎（PAN）が主な疾患であるが、特に PAN については臨床像も明らかではない。

TA に対し近年免疫抑制薬を含めた強力な早期治療導入が可能となりつつあるが、2012 年の全国調査では 31 例中 2 例の死亡例が報告され、依然として診断・治療に難渋する疾患である。また、PAN は 2008 年に欧州リウマチ学会/小児リウマチ国際研究機関/小児リウマチヨーロッパ協会（EULAR/PRINTO/PReS）の合同会議で小児の診断基準が設けられたが、厚労省の診断基準と比較すると感度は悪く不可逆的な血管病変の確認が必要であるため合併症や後遺症は必発であり、早期診断が求められる。2014 年に初めて報告された ADA2 欠損症は PAN に表現型が類似していることから、蛋白の機能解析を通じて血管炎の病態解明につながる可能性を秘めている。

将来的には以下の 4 点を明確にする必要がある。

1. 小児期発症高安動脈炎の疫学調査（病態、治療の実際、合併症、後遺症）
2. 小児期発症高安動脈炎の文献検索を用いた治療および予後因子の検討
3. 小児期発症結節性多発動脈炎およびその他の血管炎症候群の疫学調査
4. 小児期発症結節性多発動脈炎症例における CECR1 遺伝子検査と免疫学的検査を含めた機能解析と ADA2 欠損症症例との比較検討

しかし、本年度はこのうち 1 と 3 について疫学調査を中心に研究を行った。

A. 研究の背景と目的

血管炎症候群は全身の動静脈に非特異的炎症を来し血管の形態異常およびその栄養血管に支配される臓器の障害を来す原因不明の疾患である。小児では川崎病と IgA 血管炎が最多であるが、いずれもセルフリミットな経過を辿ることが多い。一方で慢性に経過する小児期発症血管炎症候群は高安動脈炎と結節性多発動脈炎が主な疾患であるがその臨床像はよく知られてい

ない。治療は、成人の治療プロトコールに準じてステロイド薬を中心に免疫抑制薬が使用され、難治例には生物学的製剤の使用例が散見されるが、小児を対象とした診療ガイドラインは策定されていないのが現状である。

高安動脈炎に対し近年免疫抑制薬が保険収載され、強力な早期治療導入が可能となりつつあるが、2012 年の全国調査では 31 例中 2 例の死亡例が報告され、両者はともに急性期のエピソード

一ドであった。依然として診断・治療に難渋する疾患であることが明らかになった。

また、結節性多発動脈炎は2008年に欧州リウマチ学会/小児リウマチ国際研究機関/小児リウマチヨーロッパ協会 (EULAR/PRINTO/PReS) の合同会議で小児の診断基準が設けられたが、厚労省の診断基準と比較すると感度は悪く、不可逆的な血管病変の確認が必要であるため合併症や後遺症は必発であり、早期診断が求められる。2014年に報告されたADA2欠損症は結節性多発動脈炎の表現型が類似していることから、血管炎の病態解明につながる可能性を秘めている。将来的には以下の4点を具体的に明確にする必要がある。

1. 小児期発症高安動脈炎の疫学調査 (病態、治療の実際、合併症、後遺症)
2. 小児期発症高安動脈炎の文献検索を用いた治療および予後因子の検討
3. 小児期発症結節性多発動脈炎およびその他の血管炎症候群の疫学調査
4. 小児期発症結節性多発動脈炎症例およびCECR1遺伝子検査と免疫学的検査を含めた機能解析とADA2欠損症症例との比較検討

本年度は、このうち1と3について疫学調査を中心に研究を行った。4については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に即して、研究の準備に時間を要する可能性が高いので、来年度以降の課題として検討することとした。

B. 研究方法

平成28年度は、全国の小児科医の勤務する医療施設にアンケートを送付し、TAとPANの疫学調査に着手した。

倫理審査などの書類手続きに時間がかかるPANについて二次調査を行い、遺伝子検査や機能解析を施行する具体的な方策を検討した。

(倫理面への配慮)

(1)「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に則して、研究を行う。研究内容は、研究代表者および分担研究者の施設での倫理審査の承認後、診療録の後方視学的解析および患者あるいは保護者の同意済の保存血清を使用する。各施設で貼付するポスターに記載する等して倫理的配慮を行っていく。

(2)個人情報の保護に関する法律(平成15年5月法律第57号)第50条の規定に沿い、得られた患者の情報は外部に一切漏れないように厳重に管理した。研究結果の公表に際しては、個人の特定が不可能であるよう配慮した。

(3)遺伝情報に関する倫理指針

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日策定、平成25年2月8日改正)に従った。

遺伝子検査およびそれに関連する遺伝カウンセリングなどの遺伝診療に関して、検査を受ける人(以下「被検者」)、血縁者及びその家族の人権を尊重し、被検者及び血縁者が特定の遺伝子変異を保有するが故に不当な差別(遺伝的差別)を受けることがないように努め、必要に応じて適切な医療及び臨床心理的、社会的支援を受けることができるように務める。

遺伝的検査のための試料は厳格に保管し、また個人識別情報及び検査結果としての個人遺伝情報はその機密性を保護する。

方法として、連結可能匿名化を利用する。研究機関等に渡す検査依頼書には、患者名などの個人情報的一切記載せず、記号化した識別番号のみを記入する。患者名が記載された遺伝子検査の依頼書・報告書等は、研究代表者の元で管理され、みだりに複写したり、担当者以外が容易にアクセス可能な状態にしない。

インフォームド・コンセントについて、遺伝カウンセリング後に本人、もしくは代諾者に文章を用いて口頭で説明し、十分に考える時間を与えた上で文章で同意を得るとともに、必要に応じて遺伝カウンセリングの機会を提供する。

C. 研究結果

- 1) アンケート結果により、全国の小児科で診断治療されているTA、PAN、その他の血管炎について15歳未満と15歳以上の患者数の全国の分布を明らかにした。TAについては15歳未満が69人、15歳以上が70人、PANは15歳未満が16人、15歳以上が23人、その他の血管炎は15歳未満が57人、15歳以上が40人であった。
- 2) 上記調査でPANの症例を治療している全施設（30施設）39症例に対し、患者背景、臨床症状、検査結果、治療経過などについての二次調査を行った。20施設、27症例の情報を収集した。その内訳はPANが19例、皮膚型PAN（cPAN）が10例であった。

3) PAN症例の二次調査と同時に、CECR1遺伝子異常やADA活性の精査の結果と精査希望の有無についての情報も収集した。遺伝子異常やADA活性の精査を既に施行されていた症例は8症例で、すべてPAN症例であった。その内遺伝子異常を指摘された症例は3症例であった。

また、精査希望は14症例であった。

4) 今後はこれらの結果を踏まえて診療ガイドラインの策定を行っていく予定である。

D. 研究発表

1 学会発表

Naoko N, Fumihiro O, Kazuhiro K, Hiroaki U, Kazuko Y, Shinji A, Shoko E, Yoji S, Kazuhiro K, Masaaki M Polyarteritis Nodosa in children: nationwide survey of Japan The 18th International Vasculitis & ANCA workshop, 2017 (Tokyo)

F. 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

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表(平成27・28年度)

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年(西暦)
Kanetaka T, <u>Mori M</u> , Nishimura KI, Nozawa T, Kikuchi M, Sakurai N, Hara R, Yamazaki K, Yokota S.	Characteristics of FDG-PET findings in the diagnosis of systemic juvenile idiopathic arthritis.	Mod Rheumatol	29	1-6	[Epub ahead of print]
Hisa K, Yanagimachi MD, Naruto T, Miyamae T, Kikuchi M, Hara R, Imagawa T, Yokota S, <u>Mori M</u> .	PADI4 and the HLA-DRB1 shared epitope in juvenile idiopathic arthritis.	PLoS One.	12(2):e0171961.		2017
<u>Okamoto N</u> , Shabana K, Murata T, and Tamai H	A pediatric case of granulomatosis with polyangiitis accompanied with dorsalis pedis artery occlusion and prominent cryofibrinogenemia	Modern Rheumatology Case Reports	DOI:10.1080/24725625.2017.1282036	Pages 1-19	2017
Wakiguchi H, <u>Takei S</u> , Kubota T, Miyazono A, Kawano Y.	Treatable renal disease in children with silent lupus nephritis detected by baseline biopsy; association with serum C3 levels.	Clin Rheumatol	36	433-437	2017
Ueki M, <u>Kobayashi I</u> , et al	Anasarca as the initial symptom in a Japanese girl with Sjögren syndrome	Mod Rheumatol Case Report in press	1	doi.org/10.1080/24725625.2017.1282037	2017
Muramatsu K, <u>Kobayashi I</u> , et al	Recurrence of juvenile dermatomyositis 8 years after remission.	JAAD Case Report	3	29	2017
<u>Kobayashi I</u> , et al	Tacrolimus in combination with methotrexate and corticosteroid for the treatment of child-onset anti-SRP antibody-positive necrotizing myopathy	Scand J Rheumatol (ahead-of-print)		doi.org/10.1080/03009742.2016.1241297	2017
Hori M, Yasumi T, Shimodera S, Shibata H, Hiejima E, Oda H, Izawa K, Kawai T, Ishimura M, <u>Nakano N</u> , Shirakawa R, Nishikomori R, Takada H, Morita S, Horiuchi H, Ohara O, Ishii E, Heike T.	A CD57+ CTL Degranulation Assay Effectively Identifies Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Type 3 Patients	J Clin Immunol.	37	92-99	2017
Okura Y, <u>Kobayashi I</u> , et al	Clinical characteristics and genotype-phenotype correlations in C3 deficiency	J Allergy Clin Immunol	137	640-4	2016
Nakakubo S, <u>Kobayashi I</u> , et al	Stroke during norovirus infection as the initial episode of antiphospholipid syndrome.	Global Pediatr Health	3	1	2016
Shigemura T, Kaneko N, Kobayashi N, Kobayashi K, Takeuchi Y, <u>Nakano N</u> , Masumoto J, Agematsu K.	Novel heterozygous C243Y A20/TNFAIP3 gene mutation is responsible for chronic inflammation in autosomal dominant Behçet's disease	Rheumatic and Musculoskeletal Disease	RMD Open 2016;2:e000223. doi:10.1136/rmdopen-2015-000223		2016
<u>森 雅亮</u>	全身性エリテマトーデス. VIII. リウマチ性疾患とその周辺疾患	小児内科	47(増刊)	856-862	2016
<u>森 雅亮</u>	若年性特発性関節炎. 小児慢性疾患の成人期移行の現状と問題点.	小児科臨床	69	661-667	2016
<u>森 雅亮</u>	若年性特発性関節炎(JIA)初期診療の手引き【第1回】定義・病態と診断.	Salvus	-	4-5	2016
<u>森 雅亮</u>	これって肝臓病? トランスアミナーゼと病態 自己免疫疾患.	小児内科	48	860-864	2016
<u>森 雅亮</u>	自己免疫疾患-Preclinical Stateから発症・早期診断まで- 小児リウマチ性疾患	医学のあゆみ	258	990-998	2016
<u>森 雅亮</u>	慢性疾患児に一生を診る- 若年性特発性関節炎(全身型).	小児内科	48	1658-1661	2016
<u>岡本奈美</u>	全身型若年特発性関節炎再燃との鑑別に血清中インターロイキン18測定が有用であった急性特発性心外膜炎の一例	大阪小児科学会誌	33巻4号	8	2016
<u>岡本奈美</u>	発症早期にマクロファージ活性化症候群を呈した若年性皮膚筋炎の1例	小児リウマチ	7巻1号	37-42	2016
<u>岡本奈美</u>	「若年性特発性関節炎初期診療の手引き」改定のためのアンケート調査結果の検討	小児リウマチ	7巻1号	5-13	2016
<u>岡本奈美</u>	若年性特発性関節炎診療・管理ガイドンス	日本小児科学会雑誌	120巻9号	1338-1355	2016
<u>岡本奈美</u>	若年性特発性関節炎初期診療の手引き2015(解説)	大阪小児科医会会報	177号	3-6	2016
<u>岡本奈美</u> , 岩田直美, 梅林宏明, 大倉有加, 金城紀子, 国島知子, 久保田知洋, 清水正樹, 野澤 智, 安村純子, <u>森 雅亮</u> , 武井修治, 横田俊平.	若年性特発性関節炎初期診療の手引き「改定のためのアンケート調査結果の検討」.	小児リウマチ	7	5-13	2016
<u>小林一郎</u>	小児期発症皮膚筋炎-若年性皮膚筋炎-	小児内科	48	1672	2016
<u>小林一郎</u>	水痘・帯状疱疹ウイルスとリウマチ性疾患	臨床免疫・アレルギー科	66	454	2016

富板美奈子	小児の特性を考慮した診断・分類基準はあるか？ シェーグレン症候群	分子リウマチ治療	9	53-56	2016
富板美奈子	小児シェーグレン症候群を疑ったときの診断の進め方	小児科	57	1045-1051	2016
Hara R, Miyazawa H, Nishimura K, Momoi T, Nozawa T, Kikuchi M, Sakurai N, Kizawa T, Shimamura S, Yasuda S, Hiromura K, Sada K, Kawaguchi Y, Tamura N, <u>Takei S</u> , Takasaki Y, Atsumi T, <u>Mori M</u> .	A national survey on current use of mycophenolate mofetil for childhood-onset systemic lupus erythematosus in Japan.	Mod Rheumatol	25(6)	858-864	2015
Kizawa T, Nozawa T, Kikuchi M, Nagahama K, Okudera K, Miyamae T, Imagawa T, Nakamura T, <u>Mori M</u> , Yokota S, Tsutsumi H.	Mycophenolate mofetil as maintenance therapy for childhood-onset systemic lupus erythematosus patients with severe lupus nephritis.	Mod Rheumatol	25(2)	210-214	2015
Yokota S, Kikuchi M, Nozawa T, Kanetaka T, Sato T, Yamazaki K, Sakurai N, Hara R, <u>Mori M</u> .	Pathogenesis of systemic inflammatory diseases in childhood: "Lessons from clinical trials of anti-cytokine monoclonal antibodies for Kawasaki disease, systemic onset juvenile idiopathic arthritis, and cryopyrin-associated periodic fever syndrome".	Mod Rheumatol	25(1)	1-10	2015
Yasuda S, Atsumi T, Shimamura S, Ono K, Hiromura K, Sada K, <u>Mori M</u> , Takei S, Kawaguchi Y, Tamura N, Takasaki Y.	Surveillance for the use of mycophenolate mofetil for adult patients with lupus nephritis in Japan.	Mod Rheumatol	25(6)	854-857	2015
<u>Kobayashi I</u> , <u>Mori M</u> , Yamaguchi KI, Ito S, Iwata N, Masunaga K, Shimojo N, Ariga T, Okada K, <u>Takei S</u> .	Pediatric Rheumatology Association of Japan recommendation for vaccination in pediatric rheumatic diseases.	Mod Rheumatol	25(3)	335-343	2015
Kobayashi N, Takezaki S, <u>Kobayashi J</u> , Iwata N, <u>Mori M</u> , Nagai K, Nakano N, Miyoshi M, Kirino N, Murata T, Masunaga K, Umebayashi H, Imagawa T, Agematsu K, Sato S, Kuwana M, Yamada M, <u>Takei S</u> , Yokota S, Koike K, Ariga T.	Clinical and laboratory features of fatal rapidly progressive interstitial lung disease associated with juvenile dermatomyositis.	Rheumatology (Oxford)	54	784-91	2015
Kobayashi N, <u>Kobayashi I</u> , <u>Mori M</u> , Sato S, Iwata N, Shigemura T, Agematsu K, Yokota S, Koike K.	Increased Serum B Cell Activating Factor and a Proliferation-inducing Ligand Are Associated with Interstitial Lung Disease in Patients with Juvenile Dermatomyositis.	J Rheumatol	42	2412-8	2015
<u>Kobayashi J</u> , <u>Mori M</u> , Yamaguchi K, Ito S, Iwata N, Masunaga K, Shimojo N, Ariga T, Okada K, <u>Takei S</u> .	Pediatric Rheumatology Association of Japan (PRAJ) Recommendation for Vaccination in Pediatric Rheumatic Diseases	Modern Rheumatology	25(3)	335-343	2015
木澤敏毅、原 良紀、森 雅亮	特集：小児リウマチ性疾患の最新治療。全身性エリテマトーデスの新しい治療法：MMFの位置づけ	小児科診療		1093-1099	2015
村田卓士、岡本奈美、謝花幸祐、西藤奈葉子	開業専門医として、リウマチ性疾患のトランジションをどうサポートするか？	外来小児科	18	330-334	2015
森 雅亮、原 良紀	小児期発症全身性エリテマトーデスに対するミコフェノール酸モフェチルの使用実態に関する全国調査—本症に対する世界初の適応拡大を目指して—	リウマチ科	54	205-212	2015
小林一郎	若年性皮膚筋炎	小児科診療 特集：小児リウマチ性疾患の最新治療	78	1101-8	2015
小林一郎	若年性皮膚筋炎—間質性肺疾患および成人皮膚筋炎との違いを中心に	臨床リウマチ	27	163-70	2015
岡本奈美	JIAの治療総論	小児科診療	78	1039-1046	2015
富板美奈子	小児期のSjögren症候群の診断と治療	小児科診療	78	1115-1123	2015

研究成果の刊行に関する一覧表(平成27・28年度)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年(西暦)	ページ
森 雅亮	若年性特発性関節炎.	日本リウマチ財団教育研修委員会・日本リウマチ学会生涯教育委員会 編集	リウマチ病学テキスト 改訂第2版.	診断と治療社.	東京	2016	137-141.
森 雅亮	若年性特発性関節炎. 11. 免疫・膠原病.	-	小児科診療ガイドラインー最新の診療指針ー第3版.	総合医学社	東京	2016	534-540
森 雅亮	疾病別で学ぶ自己注射使用の現状と使いやすさの向上. 第13節 若年性特発性関節炎.	-	自己注射に対する医師・患者ニーズと製品開発への落とし込み	技術情報協会	東京	2016	86-96
森 雅亮	膠原病・リウマチ・アレルギー疾患を診療する. 若年性特発性関節炎(JIA).	-	膠原病・リウマチ・アレルギー 研修ノート	診断と治療社	東京	2016	308-314
岡本奈美(編集代表)		社団法人日本リウマチ学会 小児リウマチ調査検討小委員会 編集	若年性特発性関節炎診療ハンドブック2007	メディカルレビュー社	大阪	2017年4月予定	
岡本奈美	若年性特発性関節炎	監修 日本小児整形外科学会	小児整形外科学テキスト	medical view	東京	2016年	324-331
岡本奈美	若年性特発性関節炎	総編集 水口雅、市橋光、崎山弘	今日の小児治療指針	医学書院	東京	2015年	278-280
岡本奈美	若年性関節炎へのアプローチ	公益財団法人日本リウマチ財団教育研修委員会、一般社団法人日本リウマチ学会生涯教育委員会	リウマチ病学テキスト第2版	診断と治療社	東京	2016	50-52
富板美奈子	シェーグレン症候群	日本小児科学会監修、国立成育医療研究センター 小児慢性特定疾病情報室編	小児慢性特定疾病ー診断の手引き	診断と治療社	東京	2016	
森雅亮、岡本奈美ら	—	一般社団法人日本リウマチ学会 小児リウマチ調査検討小委員会	若年性特発性関節炎初期診療の手引き2015	メディカルレビュー社	大阪	2015	—
岡本奈美	若年性特発性関節炎	水口雅、市橋光、崎山弘	今日の小児治療指針第16版	医学書院	東京	2015	278-280
岡本奈美	若年性特発性関節炎(JIA)初期診療の手引き案(2015年)	松前謙司	クリニシアン	エーザイ株式会社	東京	2015	190-198
富板美奈子	Ⅱ. 全身性自己免疫疾患 小児科領域における自己免疫疾患(小児期発症型) Sjögren症候群	-	別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ 免疫症候群ーその他の免疫疾患を含めてーI	日本臨牀社	大阪	2015	874-879
富板美奈子	Sjögren症候群	「小児内科」「小児外科」編集委員会共編	小児疾患診療のための病態生理 2	東京医学社	東京	2015	899-904

V. 研究成果刊行物・別冊

ORIGINAL ARTICLE

Characteristics of FDG-PET findings in the diagnosis of systemic juvenile idiopathic arthritis

Taichi Kanetaka^{1,2}, Masaaki Mori³, Ken-ichi Nishimura², Tomo Nozawa², Masako Kikuchi², Nodoka Sakurai², Ryoki Hara², Kazuko Yamazaki², and Shumpei Yokota²

¹Department of Pediatrics, Yokosuka Kyosai Hospital, Yokosuka, Japan, ²Department of Pediatrics, Yokohama City University School of Medicine, Yokosuka, Japan, and ³Department of Pediatrics, Yokohama City University Medical Center, Yokosuka, Japan

Abstract

Objective: To examine and delineate inflammatory focus in patients with juvenile idiopathic arthritis (JIA), ¹⁸F-Fluoro-deoxy-glucose (FDG)-positron emission tomography (PET) (¹⁸F-FDG-PET) was applied to patients with JIA, and the images of these patients were compared.

Methods: Sixty-eight children (59 with systemic JIA (s-JIA) and 9 with polyarticular JIA) were included. The diagnosis of JIA was done to meet the International League of Associations for Rheumatology (ILAR) criteria. After 6-h fasting, whole-body positron emission tomography (PET) scans were acquired 60 min after intravenous injection of 3–5 MBq/kg ¹⁸F-FDG. The interpretation of ¹⁸F-FDG uptake was based on visual characteristics.

Results: Two types of PET images were outstanding in s-JIA; one was ¹⁸F-FDG uptake in red bone marrow, such as the spine, pelvis, and long bones as well as spleen (12 cases), and other type was the uptake in the major joints, such as hips, elbows, wrists, knees, and ankles (8 cases). The former findings were correlated with elevated levels of inflammatory markers, while the latter were with significantly increased levels of MMP-3 ($p < 0.05$).

Conclusion: There was a noticeable accumulation of ¹⁸F-FDG uptake in bone marrow of s-JIA patients which may indicate the inflammatory focus of this disease and play an important role in the pathogenic basis of arthritis and systemic inflammation of s-JIA.

Keywords:

Diagnosis, F-Fluoro-deoxy-glucose-positron emission tomography, Systemic juvenile idiopathic arthritis

History

Received 1 April 2015

Accepted 3 August 2015

Published online 28 September 2015

Introduction

Systemic juvenile idiopathic arthritis (s-JIA) is a systemic chronic inflammatory disease, the main symptoms of which are remittent fever, rheumatoid rash, and arthritis [1]. During the clinical course, about 7% of patients suffer from macrophage activation syndrome (MAS), which can be life-threatening. Some patients develop MAS as the first symptom of the disease [2,3]. In s-JIA, the whole range of symptoms is rarely observed at the onset, with remitting fever being an early symptom in most cases, while arthritis tends to appear later. Therefore, early diagnosis is required but no appropriate diagnostic marker has been established to date. However, it has been determined that heme oxygenase-1 (HO-1) and interleukin-18 (IL-18) are markedly increased at the active phase of s-JIA, unlike in polyarticular and oligoarticular juvenile idiopathic arthritis, and these two factors have been reported to be useful serological diagnostic markers [4,5]. In addition, matrix metalloproteinase 3 (MMP-3), which is produced by inflamed synovial cells and fibroblasts, is a useful activity marker for cartilage destruction. It has become possible to diagnose the disease and evaluate its activity relatively easily. Together with a marked elevation in inflammatory markers, such as C-reactive protein (CRP) and blood sedimentation rate, the diagnosis of s-JIA can become more accurate.

Although s-JIA is currently classified as one subtype of JIA, there is a school of thought considering the disease as an autoinflammatory syndrome [6]. Affected joints are markedly different from polyarticular and oligoarticular JIA, and the process of cartilage and bone destruction is also different, suggesting that s-JIA is a different disease. Marked osteoporosis and poor development of epiphyseal nuclei are observed in the systemic type, whereas narrowing of the joint space is characteristic of the articular type [7,8], suggesting different mechanisms responsible for disease onset of systemic versus articular type.

In the present study, the primary inflammatory lesion was investigated by ¹⁸F-FDG-PET (FDG-PET) in >400 cases with remittent fever. The FDG-PET findings were compared in 59 cases of s-JIA diagnosed based on serological evaluation and clinical course, so that characteristic FDG-PET findings for the disease could be determined. In cases that do not receive a firm diagnosis, these characteristic FDG-PET findings may be used as potent diagnostic tools.

Patients and methods

A total of 68 cases with JIA examined by FDG-PET between January 2002 and December 2011 at our hospital were retrospectively investigated. There were 59 cases of s-JIA (31 boys and 28 girls; average age, 9.1 ± 3.9 years) and nine polyarticular JIA (p-JIA) (5 boys and 4 girls; average age, 11.6 ± 5.2 years). Joints at the bilateral shoulders, elbows, hands, hips, knees, and ankles were evaluated. Articular symptoms of tenderness and swelling of each joint were recorded. White blood cell count (WBC), CRP,

Correspondence to: Masaaki Mori, Department of Pediatrics, Yokohama City University Medical Center, 4-57 Urafune-cho, Minami-ku, Yokohama 232-0024, Japan. E-mail: mmori@med.yokohama-cu.ac.jp

serum amyloid A (SAA), erythrocyte sedimentation rate (ESR), ferritin, and FDP-E were assessed as inflammatory markers, while MMP-3 was used as a marker of articular destruction; plasma G-CSF, IL-6, and IL-18 were measured at the same time.

For FDG-PET, ^{18}F -FDG was intravenously infused after 6 h of fasting, and images were scanned 1 h later. $\text{SUV}_{\text{max}} \geq 0.5$ was considered positive for defining ^{18}F -FDG accumulation. Next, clinical symptoms and laboratory data at the time of FDG-PET and accumulation patterns of ^{18}F -FDG were compared among the 12 joints listed above. In addition, cases with characteristic ^{18}F -FDG accumulation findings were extracted and their images were examined.

This study was carried out as part of advanced medical research of the hospital (Registration No. 158-1) and all patients participated in the study only after they gave informed consent.

Results

^{18}F -FDG accumulation in children without inflammation

After exploration of a remittent fever, a case without inflammation is presented here, as an example (Figure 1). In children without inflammation, ^{18}F -FDG accumulates in the brain, heart, bladder, and joints during growth. This patient is an 8-year-old girl with low-grade fever of unknown origin and pain in the extremities. Her complaints were severe and her parents wanted to have her examined as extensively as possible. We undertook FDG-PET after obtaining informed consent from her and her parents. It was confirmed that she had no inflammation and she was diagnosed as suffering from fibromyalgia.

Characteristics of ^{18}F -FDG accumulation in cases with p-JIA

In 11 cases with p-JIA, ^{18}F -FDG accumulation showed a diffuse distribution pattern in inflamed joints. It was often observed that ^{18}F -FDG accumulated in almost all large joints as in (Figure 2a) and (Figure 2b) or in those joints with severe inflammation as

in (Figure 2c). There was no accumulation in the bone marrow and no significant difference in accumulation in the liver or spleen.

Relationship between arthritis and ^{18}F -FDG accumulation in cases with p-JIA

Relationships between SUV_{max} and other laboratory data such as CRP, ESR, WBC, and MMP-3 were examined, but no significant correlations were found (Figure 2).



Figure 1. FDG-PET findings in a healthy child. Despite no abnormal inflammation, accumulation in the brain, heart, bladder, and joints at the growth stage is observed.

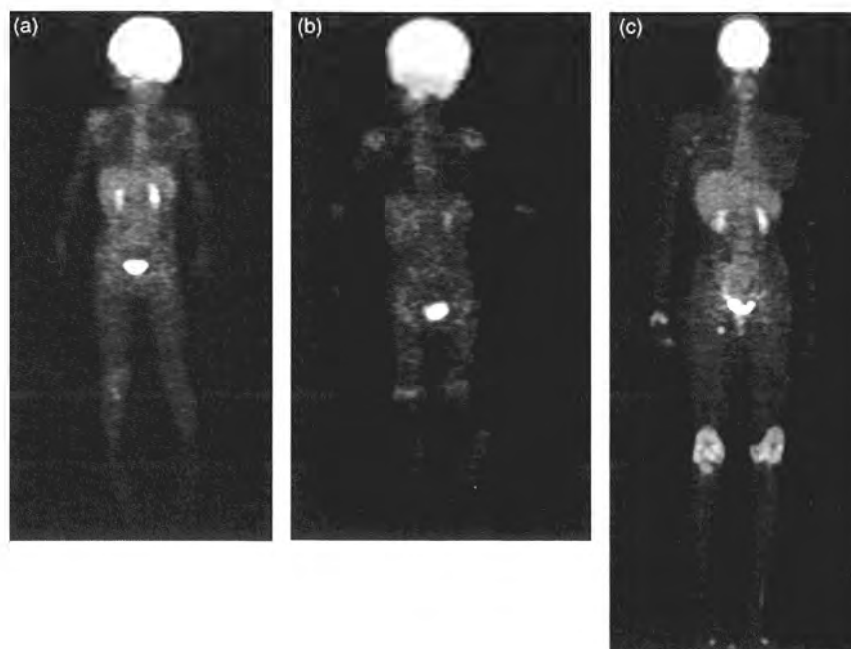


Figure 2. FDG accumulation in cases with p-JIA. (a) Accumulation is observed at the bilateral shoulders, elbows, wrists, and in the knees. In particular, marked accumulation was observed at the bilateral shoulders, the left elbow, and in the right knee. (b) Accumulation is observed at the bilateral shoulders, in the elbows, wrists, hips, knees, and ankles. (c) Marked accumulation is observed in the bilateral knees and the right wrist.

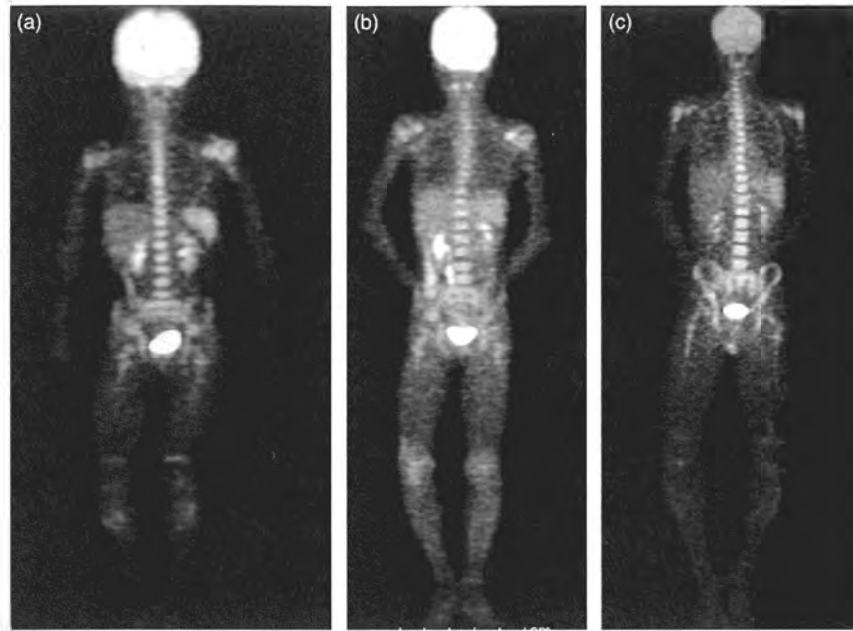


Figure 3. FDG accumulation in s-JIA (type I). (a) Accumulation is observed at the bilateral shoulders, in the vertebrae, pelvis, spleen, and bilateral knees. Accumulation is centered on the head of the humerus at the shoulder and the proximal tibial bone at the knee. (b) Accumulation is observed at the bilateral shoulders, in the vertebrae, pelvis, spleen, and bilateral knees. (c) Marked accumulation at the bilateral shoulders, in the vertebrae, pelvis, and spleen. Accumulation is also observed in the knee. At the shoulder and in the knee, accumulation is observed not in the joint but at the epiphysis (bone marrow tissue). In the pelvis, accumulation is marked at the ala of the ilium that contained red bone marrow.

Characteristics of ^{18}F -FDG accumulation in cases with s-JIA

There were two characteristic patterns in ^{18}F -FDG accumulation in the 59 cases with s-JIA. They were designated type I and type II as follows:

- (1) Characteristic accumulation was found in all vertebral bodies and pelvis and around large joints, such as shoulders and knees. The accumulation was not in the joint synovia but the bone itself or at the end of the long bones. It was considered that accumulation was not in the joints but in the bone marrow. In addition, compared with the liver, greater accumulation in the spleen was characteristic (Figure 3) (type I, 12 cases).
- (2) As in cases with p-JIA, diffuse accumulation in inflamed joints was recognized. There was no accumulation in the bone marrow and no significant difference between the liver and spleen (Figure 4) (type II, 8 cases).

Relationship between arthritis and ^{18}F -FDG accumulation in cases with s-JIA

Relationships between SUVmax and other laboratory data such as CRP, ESR, WBC, and MMP-3 were examined, but no significant correlations were found.

Comparison of different accumulation patterns in cases with s-JIA

Age, gender, duration from onset, treatment intervention, transition to MAS, reduction in the steroid dose 1 year later, cases treated with biological agents, and number of refractory cases were compared between type I and type II. With regard to laboratory data, WBC, CRP, SAA, ESR, ferritin, FDP-E, MMP-3, IL-6, IL-18, and G-CSF were compared (Tables 1 and 2, and Figure 5).

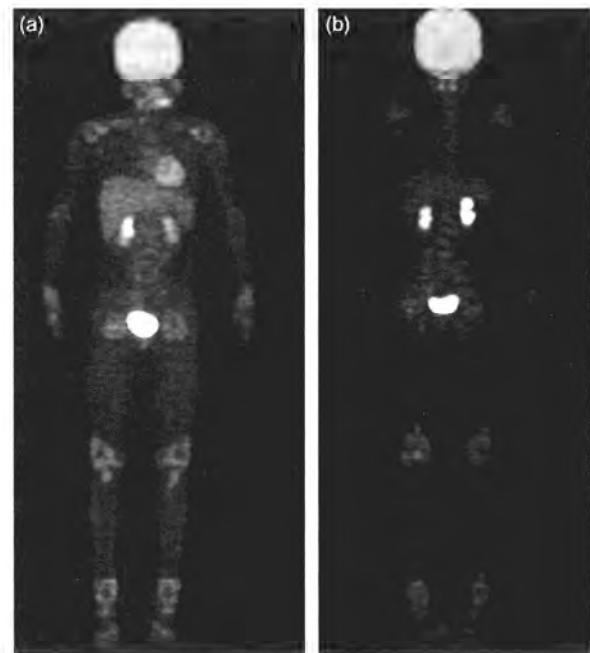


Figure 4. FDG accumulation in s-JIA (type II). (a) Accumulation is observed at the bilateral shoulders, in the elbows, hands, hips, knees, and ankles. In particular, it is marked in the hands, knees, and ankles. (b) Accumulation is observed at the bilateral shoulders, in the hands, knees, and ankles. It is marked in the knees and ankles.

Type I accumulation in FDG-PET was observed in boys, in particular, immediately after onset and before treatment; the risk of developing MAS seemed high. There was no significant difference in treatment resistance.

The test results (Figure 5) showed that inflammation markers such as WBC, CRP, SAA, ESR, ferritin, IL-6, IL-18, and G-CSF

were significantly higher in type I, whereas the synovitis marker MMP-3 was significantly higher in type II.

Discussion

FDG-PET results for the diagnosis of remittent fever and reference findings of JIA were collected for retrospective comparison over a 10-year period at our department. Of these, 68 cases with JIA were analyzed. In cases with p-JIA, ¹⁸F-FDG accumulated in the joints with synovitis, as is seen in adult rheumatoid arthritis. These findings were almost identical to the physical, ultrasonographic, and magnetic resonance imaging (MRI) findings for arthritis. Although it was reported that SUVmax correlates with the severity

of arthritis, there was no such significant correlation in the present study. The degree of accumulation was influenced by the interval from radioisotope injection to scanning, a meal and exercise taken before the test, and age and body build of the subjects, and there was a large interindividual variation in measurements.

Characteristic images of ¹⁸F-FDG accumulation in the red bone marrow tissue of the whole body were obtained in 12 cases, as shown in Figure 3. Among cases diagnosed with s-JIA, findings similar to those of p-JIA were sometimes obtained. Cases with accumulation in the bone marrow tissue had a shorter period from onset, had received less intensive treatment, and showed an increase in serological markers for systemic inflammatory status (WBC, CRP, SAA, ESR, ferritin, FDP-E, IL-6, IL-18, and G-CSF). Diagnosis of s-JIA at an early stage after onset is a critical issue for treatment selection; these findings will be useful for diagnosis in this regard.

For reference, in this study, FDG-PET images from 23 juvenile systemic lupus erythematosus patients, 20 juvenile dermatomyositis, 10 mixed connective tissue disease, 8 systemic sclerosis, and 10 Kawasaki disease patients were examined and no characteristic findings in these diseases were observed.

It has been demonstrated that imaging modalities are useful for the diagnosis and evaluation of arthritis in JIA, and recent advances in joint ultrasonography, in particular, for p-JIA, have been remarkable [9]. It is highly significant that this modality enables real-time evaluation of inflammation based on the presence of synovitis, retention of synovial fluid, stratification of synovial membrane, and increased blood flow by power Doppler imaging. Additionally, joint ultrasonography is useful for the evaluation of arthritis in cases with s-JIA, but differential diagnosis is very difficult when the patient presents with a remittent fever with unclear arthritis. However, an elevation in HO-1 [4] and IL-18 [5] is disease-specific and these can be useful serological markers for diagnosis. Therefore, it is expected that they will be widely used as serological markers.

FDG-PET showed characteristic findings in this study. In type I s-JIA, ¹⁸F-FDG accumulation was observed in the bone marrow, in particular the red bone marrow, reflecting systemic inflammation; accumulation was also more marked in the spleen than in the liver. These findings are otherwise seen only in some diseases

Table 1. Comparison of type-I and type-II s-JIA (at scanning).

Background of s-JIA subtypes	s-JIA type I	SJIA type II
Number of cases	12	8
Age (years) (range)	8.8 ± 2.8 (3~14)	7.9 ± 4.1 (3~18)
Boy:girl ratio	8:4	3:5
Duration from onset (months)	1.3 ± 1.7 (0~10)	23.4 ± 43 (0~66)
No treatment when PET taken	7 cases (58%)	1 case (13%)

Table 2. Comparison of type-I and type-II s-JIA (all clinical courses).

Course of s-JIA subtypes	s-JIA type I	s-JIA type II
Number of cases	12	8
Macrophage activation syndrome	3 cases (25%)	0 cases
Reduction rate of PSL dosage (after 1 year)	-63.1%	-54.9%
Treatment with biologics	11 cases (91.7%)	6 cases (85.7%)
Refractory cases	3 cases (1 articular, 2 systemic course)	5 cases (all cases had articular courses)

Laboratory findings of s-JIA. Comparing Type I with Type II.

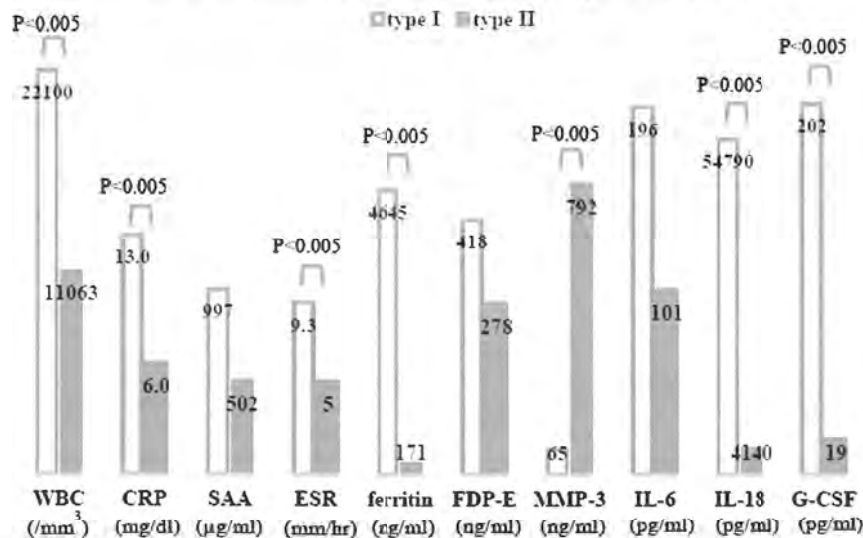


Figure 5. Laboratory findings of s-JIA: comparing type I with type II. Inflammation markers, such as WBC, CRP, SAA, ESR, ferritin, IL-6, IL-18, and G-CSF, were significantly higher in type I, whereas the synovitis marker MMP-3 was significantly higher in type II.

such as sepsis and are thus considered relatively specific for the diagnosis of s-JIA in combination with serological tests. FDG also accumulates in the bone marrow of patients with leukemia. Nevertheless, FDG-PET in s-JIA is different in that there is relatively homogeneous accumulation in the bone marrow, whereas in leukemia it has a speckled distribution.

It should be noted that adult-onset Still's disease, a disease similar to s-JIA, also exhibits characteristic accumulation of ^{18}F -FDG in the bone marrow, spleen, and lymph nodes, and FDG-PET is considered an effective modality for its diagnosis at the stage of exploration of remittent fever in adults [10]. In addition, FDG accumulation was observed in inflamed joints as a characteristic finding in type-II s-JIA, suggesting synovitis. Furthermore, there was no significant difference in the amount of FDG accumulation in the liver relative to the spleen, and there was no accumulation in the bone marrow. In type-II s-JIA, some cases manifest arthritis as the main symptom after a long clinical course, while others have a tendency to improve after anti-inflammatory treatment such as with steroids. The clinical course of type-I and type-II s-JIA is different, as reflected in differences at the sites of ^{18}F -FDG accumulation. In p-JIA, ^{18}F -FDG accumulated only at the joints with inflammation and there was no significant difference in the accumulation in the bone marrow and spleen. These findings are consistent with the FDG-PET findings observed in adult rheumatoid arthritis [11] and are interpreted as ^{18}F -FDG accumulation at the joint synovial membrane and synovial fluid in the joint capsule. s-JIA rarely develops a remittent fever, rash, and arthritis at the same time during disease progression. It starts with a remittent fever and rash, following which arthritis develops, and in the long-term eventually causes problems in daily life activities due to polyarthritis [2]. It is an inflammatory disease in which systemic inflammation precedes the appearance of arthritis that eventually becomes the main symptom.

Exploration by FDG-PET in this study showed two patterns of type-I and type-II s-JIA ^{18}F -FDG accumulation, with type-I revealing a pattern at the early stage after onset based on clinical findings and laboratory data, and showing inflammation localized to the bone marrow and spleen. In contrast, type II is an advanced inflammatory disease and progression to arthritis is expressed similarly to p-JIA and rheumatoid arthritis.

According to the national survey on exploration of "remittent fever," s-JIA is the most frequent outcome with a definite diagnosis [12]. In general, it takes a long time before a definite diagnosis can be made. In addition, 6.8 to 13% of cases develop MAS and their prognosis is often poor [13]. Therefore, early diagnosis is desirable for s-JIA to initiate appropriate mitigating treatment. Our results that FDG-PET showed a characteristic accumulation pattern for early systemic inflammation indicate that this imaging modality is useful for early diagnosis of s-JIA.

Accumulation of ^{18}F -FDG in the bone marrow suggests that these cells are proliferating, and differentiating [14]. G-CSF and GM-CSF administered to counter the adverse effects of chemotherapy is associated with accumulation of ^{18}F -FDG in the bone marrow and spleen [15]. In that study, plasma G-CSF levels were markedly increased at the time of FDG-PET in cases with s-JIA [15], most of whom also showed an increase in peripheral blood granulocytes. Therefore, it was suggested that excessive G-CSF was involved in the accumulation of ^{18}F -FDG in systemic inflammation at the early stage of s-JIA, and thus not only IL-6 but also G-CSF was potentially involved in disease pathogenesis [16].

Because HO-1 and IL-18 are increased in the serum [4,5] and amyloidosis is an important factor influencing the development of joint destruction, marked osteoporosis [6], and the prognosis of s-JIA, it is clear that this disease exhibits different characteristics relative to p-JIA. The systemic type has the characteristics of

an "autoinflammatory syndrome" as a systemic inflammatory disease lacking associations with external factors, and its tentative assignment into this disease category is currently under consideration [17,18].

Characteristics of FDG-PET findings were elucidated in the present study. After infectious disease and malignancy were ruled out based on a blood culture test and bone marrow testing, the findings of FDG accumulation in the bone marrow (red bone marrow) and spleen are consistent with the proposal that s-JIA should be classified as an "autoinflammatory disease". Investigations of larger numbers of similar cases to support the utility of FDG-PEG for disease diagnosis is now required.

Conflict of interest

Masaaki Mori has received lecture fees from MSD, Sumitomo Dainippon Pharma, and Pfizer Japan Inc, and has served as a consultant adviser to Bristol-Myers Squibb and Astellas Pharm. Shumpei Yokota hold a patent for tocilizumab and receives royalties for Actemra. All other authors have declared no conflicts of interest.

References

- Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldberg J, He X. International league of associations for rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol.* 2004;31:390–2.
- Yokota S. Juvenile rheumatoid arthritis (in Japanese). *Nihon Rinsho.* 2005;63Suppl5:274–80.
- Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis. *Lancet.* 2007;369:767–78.
- Takahashi A, Mori M, Naruto T, Nakajima S, Miyamae T, Imagawa T, et al. The role of heme oxygenase-1 in systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol.* 2009;19(3):302–8.
- Maeno N, Takei S, Imanaka H, Yamamoto K, Kuriwaki K, Kawano Y, et al. Increased interleukin-18 expression in bone marrow of a patient with systemic juvenile idiopathic arthritis and unrecognized macrophage-activation syndrome. *Arthritis Rheum.* 2004;50(6):1935–58.
- Ozawa R, Inaba Y, Mori M, Hara R, Kikuchi M, Higuchi R, et al. Definitive differences in laboratory and radiological characteristics between two subtypes of juvenile idiopathic arthritis: systemic arthritis and polyarthritis. *Mod Rheumatol.* 2012;22(4):558–64.
- Reed MH, Wilmot DM. The radiology of juvenile rheumatoid arthritis. A review of the English language literature. *J Rheumatol.* 1991;Suppl31:2–22.
- Inaba Y, Ozawa R, Imagawa T, Mori M, Hara R, Miyamae T, et al. Radiographic improvement of damaged large joints in children with systemic juvenile idiopathic arthritis following tocilizumab treatment. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(9):1693–5.
- Janow GL, Panghaal V, Trinh A, Badger D, Levin TL, Ilowite NT. Detection of active disease in juvenile idiopathic arthritis: sensitivity and specificity of the physical examination vs. ultrasound. *J Rheumatol.* 2011;38(12):2671–4.
- Yamashita H, Kubota K, Takahashi Y, Minamimoto R, Morooka M, Kaneko H, et al. Clinical value of ^{18}F -fluoro-dexoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in patients with adult-onset Still's disease: a seven-case series and review of the literature. *Mod Rheumatol.* 2014;24(4):645–50.
- Beckers C, Ribbens C, André B, Marcelis S, Kaye O, Mathy L, et al. Assessment of disease activity in rheumatoid arthritis with ^{18}F -FDG PET. *J Nucl Med.* 2004;45(6):956–64.
- Kasai K, Mori M, Hara R, Miyamae T, Imagawa T, Yokota S. National survey of childhood febrile illness cases with fever of unknown origin in Japan. *Pediatr Int.* 2011;53(4):421–5.
- Minoia F, Davi S, Home A, Demirkaya E, Bovis F, Li C, et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: a multinational, multicenter study of 362 patients. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(11):3160–9.
- Morooka M, Kubota K, Murata Y, Shibuya H, Ito K, Mochizuki M, et al. ^{18}F -FDG-PET/CT findings of granulocyte colony stimulating

- factor (G-CSF)-producing lung tumors. *Ann Nucl Med.* 2008; 22(7):635–9.
15. Goshen E, Davidson T, Yeshurun M, Zwas ST. Combined increased and decreased skeletal uptake of F-18 FDG. *Clin Nucl Med.* 2006;31(9):520–2.
 16. Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M. Inflammatory cytokines and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol.* 2004;14(1):12–17.
 17. Hinks A, Martin P, Thompson SD, Sudman M, Stock CJ, Thomson W, et al. Autoinflammatory gene polymorphisms and susceptibility to UK juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J.* 2013;11(1):14.
 18. Lin YT, Wang CT, Gershwin ME, Chiang BL. The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs. systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmun Rev.* 2011;10(8):482–9.

RESEARCH ARTICLE

PADI4 and the HLA-DRB1 shared epitope in juvenile idiopathic arthritis

Kaori Hisa^{1,2}, Masakatsu D. Yanagimachi^{1,3*}, Takuya Naruto¹, Takako Miyamae¹, Masako Kikuchi¹, Rhoki Hara¹, Tomoyuki Imagawa^{1,2}, Shumpei Yokota¹, Masaaki Mori^{1,4}

1 Department of pediatrics, Yokohama City Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan, **2** Department of infectious disease and immunology, Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama, Japan, **3** Department of Pediatrics, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan, **4** Department of Lifetime Clinical Immunology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

* myanagimachi.ped@tmd.ac.jp



Abstract

Objective

Both genetic and environmental factors are associated with susceptibility to juvenile idiopathic arthritis (JIA). Many studies have reported that both a 'shared epitope' (SE) encoded by several HLA-DRB1 alleles and the peptidyl arginine deiminase type 4 (PADI4) gene polymorphisms are associated with susceptibility to rheumatoid arthritis (RA). However, it is uncertain whether JIA and RA share the latter genetic risk factor. Therefore, here we investigated relationships between HLA-SE and PADI4 polymorphisms with clinical subtypes of JIA.

Methods

JIA patients (39 oligoarthritis, 48 RF-positive polyarthritis, 19 RF-negative polyarthritis and 82 systemic) and 188 healthy controls were genotyped for HLA-DRB1 by PCR-sequence-specific oligonucleotide probe methodology. Three PADI4 gene single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs2240340, rs2240337 and rs1748033, were genotyped using TaqMan SNP Genotyping Assays.

Results

Frequencies of the HLA-SE were higher in RF-positive polyarticular JIA than in healthy controls. RF-positive polyarticular JIA was associated with HLA-SE (OR = 5.3, 95% CI = 2.5–11.9, $p < 0.001$). No associations were found between clinical subtypes of JIA and PADI4 allele frequency. Nonetheless, rs2240337 in the PADI4 gene was significantly associated with anti-cyclic citrullinated peptide antibody (ACPA)-positivity in JIA. The A allele at rs2240337 was a significant risk factor for ACPA positivity in JIA (OR = 5.6, 95% CI = 1.71–23.7 $p = 0.03$).

OPEN ACCESS

Citation: Hisa K, Yanagimachi MD, Naruto T, Miyamae T, Kikuchi M, Hara R, et al. (2017) PADI4 and the HLA-DRB1 shared epitope in juvenile idiopathic arthritis. PLoS ONE 12(2): e0171961. doi:10.1371/journal.pone.0171961

Editor: Masataka Kuwana, JAPAN

Received: October 16, 2016

Accepted: January 27, 2017

Published: February 9, 2017

Copyright: © 2017 Hisa et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This work was supported by a grant from Grand-in-Aid for Scientific Research from Japan Society for the Promotion of Science (No. 16790583). The funder had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: Apart from the submitted work, Masaaki Mori has received grants from Takeda Pharmaceutical Co., Ltd., Chugai Pharmaceutical Co., Ltd., Ono Pharmaceutical Co.,

Ltd., Mitsubishi Tanabe Pharma, AbbVie LLC, UCB Japan Co. Ltd., Astellas Pharma Inc., and Eisai Co., Ltd. Dr. Mori has also received lecture fees from MSD K.K and AbbVie LLC, and consulting fees from Daiichi Sankyo Co., Ltd, and Taisho Pharmaceutical Co., Ltd. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

Conclusion

PADI4 gene polymorphism is associated with ACPA-positivity in JIA. The association of HLA-SE with RF-positive polyarticular JIA as well as RA is confirmed in Japanese. Thus, HLA-SE and PADI4 status both influence JIA clinical manifestations.

Introduction

Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is defined as a chronic arthritis developing in children <16 years of age and persisting for ≥ 6 weeks. According to the International League of Associations for Rheumatology (ILAR) classification criteria for JIA, it has 7 subtypes [1]. The 4 major subtypes are oligoarthritis, rheumatoid factor (RF)-positive polyarthritis, RF-negative polyarthritis and systemic arthritis. The major pathology of oligoarthritis and polyarthritis is articular inflammation and joint destruction. RF-positive polyarthritis is considered to be a counterpart of adult rheumatoid arthritis (RA) [2]. In contrast to the above forms of JIA, the major pathology of systemic JIA is systemic inflammation, which is considered similar to adult Still's disease [3,4].

In RA and JIA, both genetic and environmental factors are associated with disease susceptibility [5]. HLA class II gene polymorphisms are considered the most influential for RA susceptibility [6]. Many studies have reported the association of a 'shared epitope' (SE) encoded by several HLA-DRB1 alleles with RA susceptibility in adults [7]. Similarly, an association between HLA-SE and susceptibility to JIA has been reported in Caucasians [8]. We have previously reported that HLA-DRB1*04:05, a major SE-containing allele, is associated with polyarticular JIA also in the Japanese population [9].

More recently, a number of RA susceptibility genes outside of the HLA region have been identified by genome-wide association studies (GWAS) [10,11]. One of these, peptidyl arginine deiminase type 4 (PADI4) was first reported in Japanese RA patients [12,13], and subsequently confirmed in several Asian groups and subgroups of Europeans [14–17]. PADI4 is one member of PADI gene family. It codes for enzymes responsible for the posttranslational conversion of arginine residues into citrulline. It was indicated that an RA susceptibility haplotype in PADI4 was associated with increased stability of PADI4 mRNA [13]. And it could lead to accumulation of PADI4 protein, with subsequent increases in citrullinated proteins and enhanced production of autoantibodies against these citrullinated peptides [18].

PADI4 mRNA is detected in hematological cells and pathological synovial tissues [19,20]. And it was reported that PADI4 significantly overexpressed in the blood cells of RA patients [21]. Moreover, PADI4 have a nuclear localization signal, which affects the expression control of various genes [22]. PADI4 may have various role in the immune system and associated with development of autoimmune disease.

In each of the JIA subtypes, age of onset, clinical course and serological findings are different, which may be accounted for by different influences of the genetic background. However, it is uncertain whether JIA (particularly the RF-positive polyarthritic form) and RA share any genetic risk factors other than HLA-SE. There are no reports that PADI4 risk alleles are involved in JIA disease susceptibility. In the present study, which includes our previous cohort [9], we investigated relationships between HLA-SE and PADI4 polymorphisms, and clinical subtypes of JIA in the Japanese population.

Materials and methods

Study population

Patients were eligible if they met the ILAR classification criteria for JIA. A total of 188 JIA patients (39 oligoarthritis, 48 RF-positive polyarthritis, 19 RF-negative polyarthritis and 82 systemic), comprising 59 boys and 129 girls, was enrolled in this study and followed at the Yokohama City University Hospital between December 2006 and December 2009. This cohort included the 106 oligo- and poly-articular JIA patients who were described in our previous study [9]. Clinical data including age at onset, gender, RF and anti-cyclic citrullinated peptide antibody (ACPA) status were reviewed.

We conducted this study in accordance with the Declaration of Helsinki and with the approval of the Ethics Committee of the Yokohama City University School of Medicine. Written informed consent was obtained from each patient and/or their guardian. (Approval number: A090528002)

HLA genotyping

Genomic DNA was isolated from peripheral blood using the QIAamp DNA Mini kit (Qiagen K.K., Tokyo, Japan). JIA patients and healthy adult controls were genotyped for HLA-DRB1 using PCR sequence-specific oligonucleotide probes (SSOP) by the Luminex method with Genosearch HLA-A, -B and -DRB1 Ver. 2 (Medical & Biological Laboratories Co., Ltd. Nagoya, Japan), as described previously [9]. HLA-DRB1*01:01, *04:01, *04:04, *04:05, *04:10, *10:01, *14:02 and *14:06 were regarded as HLA-SE alleles [23].

PADI4 genotyping

Three single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs2240340, rs2240337 and rs1748033 in the PADI4 gene were selected based on previous research [12,13]. Genotyping for these in 188 JIA patients and 188 healthy adult controls was performed using TaqMan SNP Genotyping Assays (AB assay ID: C_16176717_10 for rs2240340, C_3123009_1 for rs2240337 and C_7541083_1 for rs1748033). These SNPs were analyzed by real-time PCR using the AB7500 Real Time PCR system (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) under the conditions recommended by the manufacturer. Allele discrimination was accomplished using SDS software version 1.4 (Applied Biosystems).

Statistical analysis

The statistical significance of the differences in the frequencies of HLA-DRB1 alleles or PADI4 gene polymorphisms between JIA subtypes was evaluated by Fishers exact test. A corrected P-value (P_c) was calculated by multiplying the P-value by the number of HLA-DRB1 alleles tested at each locus. For the PADI4 gene polymorphisms, we examined 3 SNPs and used a total of 5 independent tests.

Results

Patients' characteristics

Characteristics of the patients studied are shown in Table 1. Patients comprised 39 children with oligoarthritis, 48 with RF-positive polyarthritis, 19 with RF-negative polyarthritis and 82 with systemic arthritis. The mean age at onset of oligoarthritis was 5.6 years, RF-positive polyarthritis was 8.2 years, RF-negative polyarthritis was 7.1 years and systemic arthritis 5.0 years.

Table 1. Clinical characteristics of JIA patients.

	Oligo articular JIA (n = 39)	RF positive, polyarticular JIA (n = 48)	RF negative, polyarticular JIA (n = 19)	Systemic JIA (n = 82)
Age at JIA onset (years, mean)	5.6	8.2	7.1	5
Gender (female,%)	35 (90%)	40(83%)	10(53%)	44 (53%)
ANA (>1:160,%)	16 (41%)	19(40%)	3(16%)	3/78 (4%)
RF (>14.0 (IU ml-1),%)	9 (23%)	48(100%)	0(0%)	-
Anti-CCP (>4.5(U ml-1),%)	8 (21%)	40(83%)	0(0%)	0/43 (0%)

doi:10.1371/journal.pone.0171961.t001

HLA-DRB1 and JIA subtypes

188 healthy controls was genotyped for HLA-DRB1 to determine associations of HLA-DRB1 and HLA-SE with JIA subtype susceptibility. According to ILAR classification criteria for JIA, RF-positive oligoarticular JIA is classified as “undifferentiated”. Thus, such cases were excluded from the oligoarthritis group in HLA association studies. RF-positive polyarticular JIA was significantly associated with HLA-DRB1*04:05 and HLA-SE (OR = 5.1, 95% CI = 2.5–11, pc < 0.001; OR = 5.3, 95% CI = 2.5–11, Pc < 0.001, respectively) (Table 2). In contrast, frequencies of HLA-DRB1*04:05 and HLA-SE were not higher in the other types of JIA patients.

PADI4 polymorphisms and JIA subtypes

Frequencies of PADI4 gene polymorphisms studied in JIA patients and controls are shown in Table 3. There were no associations between clinical subtypes of JIA and PADI4 gene polymorphisms. Nonetheless, the PADI4 SNPs were significantly associated with ACPA positivity in JIA (Table 4). Because the ACPA status of all systemic JIA patients measured in this study was negative (0/43), systemic JIA was excluded from the data in Table 4. Hence, the A allele at rs2240337 is a significant risk factor for ACPA positivity in oligo- and poly-articular JIA (OR = 5.6, 95% CI = 1.7–24 Pc = 0.03). Finally, there were no associations between HLA-SE and PADI4 gene polymorphisms in oligo- and poly-articular JIA (Table 5).

Table 2. Association of HLA-DRB1*04:05 and HLA-SE with susceptibility to JIA subtypes.

HLA-DRB1*04:05	Genotype (*04:05/any)	OR	95% CI	P-value	Pc
control (n = 188)	40 (21.3%)	-	-	-	-
Oligoarticular JIA (n = 30)	1(3.3%)	0.1	0.01–0.82	0.02	NS
RF positive, polyarticular JIA (n = 48)	28 (58.3%)	5.1	2.50–10.7	<0.001	<0.001
RF negative, polyarticular (n = 19)	4(21.1%)	1	0.30–4.42	0.98	NS
RF negative(oligo+poly)(n = 49)	5(10.2%)	0.4	0.86–8.17	0.078	NS
Systemic JIA (n = 82)	21 (25.6%)	1.3	0.66–2.42	0.43	NS
HLA-SE	Genotype (SE/any)	OR	95% CI	P-value	Pc
control (n = 188)	68 (36.2%)	-	-	-	-
Oligoarticular JIA (n = 30)	6(20.0%)	0.4	0.14–1.18	0.082	NS
RF positive polyarticular JIA (n = 48)	36 (75.0%)	5.3	2.47–11.9	<0.001	<0.001
RF negative, polyarticular (n = 19)	5(26.3%)	0.6	0.17–1.96	0.39	NS
RF negative(oligo+poly)(n = 49)	15(30.6%)	0.8	0.37–1.60	0.47	NS
Systemic JIA (n = 82)	33 (40.2%)	1.8	0.67–2.09	0.59	NS

SE, shared epitope: HLA-DRB1*04:05,01:01,04:01,04:10,10:01,14:02,14:06

doi:10.1371/journal.pone.0171961.t002

Table 3. Association between PADI4 gene polymorphisms and susceptibility to JIA subtypes.

rs2240340	G allele	A allele	MAF	OR	95% CI	P	Pc
Control (n = 188)	223	153	0.41	-	-	-	-
Oligoarticular JIA (n = 30)	37	23	0.38	0.9	0.49–1.64	0.73	NS
RF positive, polyarticular JIA (n = 48)	49	47	0.49	1.4	0.87–2.25	0.17	NS
RF negative, polyarticular (n = 19)	24	14	0.37	0.9	0.39–1.78	0.64	NS
RF negative, oligo+poly articular (n = 49)	61	37	0.38	0.9	0.54–1.43	0.6	NS
Systemic JIA (n = 82)	92	72	0.44	1.1	0.77–1.68	0.51	NS
rs2240337	G allele	A allele	MAF	OR	95% CI	P	Pc
Control (n = 188)	350	26	0.07	-	-	-	-
Oligoarticular JIA (n = 30)	57	3	0.05	0.7	0.13–2.43	0.45	NS
RF positive, polyarticular JIA (n = 48)	85	11	0.12	1.7	0.75–3.82	0.14	NS
RF negative, polyarticular (n = 19)	37	1	0.03	0.4	0.01–2.36	0.25	NS
RF negative, oligo+poly articular (n = 49)	94	4	0.04	0.6	0.14–1.71	0.21	NS
Systemic JIA (n = 82)	149	15	0.18	1.4	0.65–2.74	0.38	NS
rs1748033	G allele	A allele	MAF	OR	95% CI	P	Pc
Control (n = 188)	239	137	0.36	-	-	-	-
Oligoarticular JIA (n = 30)	42	18	0.30	0.7	0.39–1.39	0.33	NS
RF positive, polyarticular JIA (n = 48)	55	41	0.43	1.3	0.80–2.10	0.29	NS
RF negative, polyarticular (n = 19)	26	12	0.32	0.8	0.36–1.72	0.55	NS
RF negative, oligo+poly articular (n = 49)	68	30	0.31	0.8	0.46–1.27	0.28	NS
Systemic JIA (n = 82)	120	44	0.27	0.6	0.42–0.97	0.03	NS

doi:10.1371/journal.pone.0171961.t003

Table 4. Association between PADI4 gene polymorphisms and ACPA positivity in oligo- and poly- articular JIA patients (n = 106).

		Anti-CCP(-) (<4.5U ml-1) (n = 58)	Anti-CCP (+) (>4.5U ml-1) (n = 48)	OR	95% CI	P	Pc
rs2240340	allele	75	46	2	1.1–3.6	0.018	NS
	recessive	26	11	2.7	1.1–7.1	0.024	NS
	dominant	49	35	2	0.70–6.0	0.158	NS
rs2240337	allele	112	80	5.6	1.7–24	0.002	0.03
	recessive	54	32	6.6	1.9–30	<0.001	<0.001
	dominant	-	-	-	-	-	-
rs1748033	allele	80	52	1.9	1.0–3.4	0.03	NS
	recessive	30	14	2.6	1.1–6.4	0.029	NS
	dominant	53	38	2.8	0.78–11	0.095	NS

Recessive: GG versus (GA/AA), dominant: (GG/GA) versus AA

doi:10.1371/journal.pone.0171961.t004

Table 5. Association between PADI4 gene polymorphisms and SE positivity in oligo- and poly- articular JIA (n = 106).

		GG	GA/AA	OR	95% CI	P-value
rs2240340	SE-	20	31	1.4	0.60–3.5	0.42
	SE+	17	38	-	-	-
rs2240337	SE-	42	9	1.2	0.39–3.5	0.81
	SE+	44	11	-	-	-
rs1748033	SE-	23	28	1.3	0.57–3.1	0.56
	SE+	21	34	-	-	-

doi:10.1371/journal.pone.0171961.t005

Discussion

Susceptibility to RA is influenced by both genetic and environmental factors such as smoking. Many studies have determined that the major RA disease susceptibility genes are the HLA class II alleles. The shared epitope (SE) hypothesis for risk of RA is well-established [7], indicating that multiple HLA-DRB1 alleles are the strongest known genetic risk factors for RA by virtue of encoding a shared amino acid sequence, known as a shared epitope, SE [6]. Several studies have also reported associations between the genetic background and JIA susceptibility [5], including associations with HLA alleles [24–29]. An association between HLA-SE and susceptibility to JIA has been confirmed in 204 RF- or ACPA-positive Caucasian JIA patients [8].

The contribution of HLA to RA susceptibility, however, accounts for only about 30% of incidence, implying that genes other than those in the HLA region are involved; some estimates suggest as many as 100. Other genes influencing RA susceptibility have now been identified, such as PADI4, PTPN22 and CTLA4. Numerous non-HLA JIA susceptibility genes have also been imputed using GWAS [11]. Variants at the PTPN22, STAT4, TNF- α , TNFAIP3, MIF, WISP3, SLC11A1 and IL2-Ra loci have been reported as risk factors for JIA by several investigators [5], although it was also reported that several of these are not necessarily shared between different ethnic groups [10,30]. Thus, there are likely to be different genetic risk factors for JIA in different ethnic groups. Therefore, here we sought an influence of HLA-SE and PADI4 on JIA susceptibility in Japanese, because both HLA-SE and PADI4 were reported as significant genetic risk factors for RA independent of ethnicity [14,15,31].

We previously reported an association of HLA-A*02:06 with JIA accompanied by uveitis and of HLA-DRB1*04:05 with polyarticular JIA [9]. In the present study, we confirmed the association between HLA-SE and RF-positive polyarticular JIA in Japanese. However, we found that HLA-SE was not associated with oligoarticular or systemic JIA in our cohort. Recently, it was reported that five amino acids in three HLA molecules, including three amino acid positions (11, 71 and 74) in HLA-DRB1, were associated with RF-seropositive RA by the HLA-imputation method [32]. It should therefore be evaluated whether these HLA amino acids are also associated with JIA susceptibility in future.

In addition to RF, ACPA is the most specific serologic marker in adult RA with a specificity of 95% and a sensitivity of 80%, similar to RF [33,34]. Considering all JIA subtypes together, ACPA was detected in 1.8–28.6% of patients, a low frequency compared to RA. However, ACPA was present in 70–90% of RF-positive polyarticular JIA patients [35]. Bone destruction is more severe in these ACPA-positive patients [36]. These results suggest that ACPA-positive polyarticular JIA may be similar to RA with regard to pathogenetic processes.

PADI4, a member of the PADI family, was first reported to be associated with RA in a Japanese population [12,13]. It encodes a peptidyl arginine deiminase responsible for the post-translational conversion of arginine residues into citrulline. We investigated associations between PADI4 gene polymorphisms and ACPA positivity in JIA in our Japanese population. The stability of PADI4 mRNA differs according to these gene polymorphisms, which may represent the mechanism by which it influences the production of ACPA [13]. To the best of our knowledge, there are no reports that PADI4 risk alleles are involved in JIA disease susceptibility. It is likely that PADI4 is also a JIA susceptibility gene in ethnic groups other than Japanese, especially in ACPA-positive JIA. This hypothesis needs further exploration.

We found no association between HLA-SE and PADI4 in JIA patients, implying that HLA-SE and PADI4 are independent JIA susceptibility genes. However, an association between HLA-SE and citrullination in the pathogenesis of RA has been noted [37]. The electropositive P4 pocket of HLA-DRB1*04:01/04 can accommodate citrulline-containing epitopes, and the CD4⁺ T cell repertoire for citrullinated antigens is increased in RA patients

harboring HLA-DRB1*04:01/04. These potential pathogenetic mechanisms may also contribute to JIA. Further study is needed to determine whether this is the case.

In conclusion, we found an association of PADI4 gene polymorphisms with ACPA-positivity in JIA, as was already known for RA. We also confirmed the influence of HLA-SE on RF-positive polyarticular JIA in the Japanese population. Thus, JIA may be classified into clinical and genetic background-based subtypes using HLA-SE and PADI4 genotyping.

Acknowledgments

This work was supported by a grant from Grand-in-Aid for Scientific Research from Japan Society for the Promotion of Science (No. 16790583).

Author Contributions

Conceptualization: KH MDY MM.

Data curation: KH MDY.

Formal analysis: KH MDY.

Funding acquisition: SY MM.

Investigation: KH MDY TN TM MK RH TI SY MM.

Methodology: KH MDY MM.

Project administration: MDY SY MM.

Resources: KH MDY TN TM MK RH TI SY MM.

Supervision: SY MM.

Validation: KH MDY TN MM.

Visualization: KH MDY MM.

Writing – original draft: KH MDY MK MM.

Writing – review & editing: KH MDY MK SY MM.

References

1. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, et al. (2004) International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 31: 390–392. PMID: 14760812
2. Lin YT, Wang CT, Gershwin ME, Chiang BL. (2011) The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmun Rev* 10: 482–489. doi: 10.1016/j.autrev.2011.02.001 PMID: 21320644
3. Mellins ED, Macaubas C, Grom AA. (2011) Pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis: some answers, more questions. *Nat Rev Rheumatol* 7: 416–426. doi: 10.1038/nrrheum.2011.68 PMID: 21647204
4. Rossi-Semerano L, Kone-Paut I. (2012) Is Still's Disease an Autoinflammatory Syndrome? *Int J Inflamm* 2012: 480373. doi: 10.1155/2012/480373 PMID: 22611516
5. Angeles-Han S, Pahalad S. (2010) The genetics of juvenile idiopathic arthritis: what is new in 2010? *Curr Rheumatol Rep* 12: 87–93. doi: 10.1007/s11926-010-0087-0 PMID: 20425016
6. Plenge RM. (2009) Rheumatoid arthritis genetics: 2009 update. *Curr Rheumatol Rep* 11: 351–356. PMID: 19772830
7. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. (1987) The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 30: 1205–1213. PMID: 2446635

8. Prahalad S, Thompson SD, Conneely KN, Jiang Y, Leong T, Prozonic J, et al. (2012) Hierarchy of risk of childhood-onset rheumatoid arthritis conferred by HLA-DRB1 alleles encoding the shared epitope. *Arthritis Rheum* 64: 925–930. doi: [10.1002/art.33376](https://doi.org/10.1002/art.33376) PMID: [21953520](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21953520/)
9. Yanagimachi M, Miyamae T, Naruto T, Hara T, Kikuchi M, Hara R, et al. (2011) Association of HLA-A*02:06 and HLA-DRB1*04:05 with clinical subtypes of juvenile idiopathic arthritis. *J Hum Genet* 56: 196–199. doi: [10.1038/jhg.2010.159](https://doi.org/10.1038/jhg.2010.159) PMID: [21179106](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21179106/)
10. Okada Y, Terao C, Ikari K, Kochi Y, Ohmura K, et al. (2012) Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Nat Genet* 44: 511–516. doi: [10.1038/ng.2231](https://doi.org/10.1038/ng.2231) PMID: [22446963](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22446963/)
11. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Suzuki A, et al. (2014) Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 506: 376–381. doi: [10.1038/nature12873](https://doi.org/10.1038/nature12873) PMID: [24390342](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24390342/)
12. Ikari K, Kuwahara M, Nakamura T, Momohara S, Hara M, Yamanaka H, et al. (2005) Association between PADI4 and rheumatoid arthritis: a replication study. *Arthritis Rheum* 52: 3054–3057. doi: [10.1002/art.21309](https://doi.org/10.1002/art.21309) PMID: [16200584](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16200584/)
13. Suzuki A, Yamada R, Chang X, Tokuhira S, Sawada T, Suzuki M, et al. (2003) Functional haplotypes of PADI4, encoding citrullinating enzyme peptidylarginine deiminase 4, are associated with rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 34: 395–402. doi: [10.1038/ng1206](https://doi.org/10.1038/ng1206) PMID: [12833157](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12833157/)
14. Kang CP, Lee HS, Ju H, Cho H, Kang C, Bae SC, et al. (2006) A functional haplotype of the PADI4 gene associated with increased rheumatoid arthritis susceptibility in Koreans. *Arthritis Rheum* 54: 90–96. doi: [10.1002/art.21536](https://doi.org/10.1002/art.21536) PMID: [16385500](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16385500/)
15. Kochi Y, Suzuki A, Yamada R, Yamamoto K. (2010) Ethnogenetic heterogeneity of rheumatoid arthritis—implications for pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 6: 290–295. doi: [10.1038/nrrheum.2010.23](https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.23) PMID: [20234359](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20234359/)
16. Gandjbakhch F, Fajardy I, Ferre B, Dubucquoi S, Flipo RM, Roger N, et al. (2009) A functional haplotype of PADI4 gene in rheumatoid arthritis: positive correlation in a French population. *J Rheumatol* 36: 881–886. doi: [10.3899/jrheum.080398](https://doi.org/10.3899/jrheum.080398) PMID: [19332633](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19332633/)
17. Cheng J, Zhang H, Zhuang C, Liu R. (2012) Peptidylarginine deiminase type 4 and methyl-CpG binding domain 4 polymorphisms in Chinese patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 39: 1159–1165. doi: [10.3899/jrheum.120007](https://doi.org/10.3899/jrheum.120007) PMID: [22505706](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22505706/)
18. Cha S, Choi CB, Han TU, Kang CP, Kang C, Bae SC, et al. (2007) Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibody levels with PADI4 haplotypes in early rheumatoid arthritis and with shared epitope alleles in very late rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 56: 1454–1463. doi: [10.1002/art.22570](https://doi.org/10.1002/art.22570) PMID: [17469103](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17469103/)
19. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. (2003) PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *Bioessays* 25: 1106–1118. doi: [10.1002/bies.10357](https://doi.org/10.1002/bies.10357) PMID: [14579251](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14579251/)
20. Chang X, Yamada R, Suzuki A, Sawada T, Yoshino S, Tokuhira S, et al. (2005) Localization of peptidylarginine deiminase 4 (PADI4) and citrullinated protein in synovial tissue of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 44: 40–50.
21. Foulquier C, Sebbag M, Clavel C, Chapuy-Regaud S, Al Dadine F, Mechin MC, et al. (2007) Peptidylarginine deiminase type 2 (PAD-2) and PAD-4 but not PAD-1, PAD-3, and PAD-6 are expressed in rheumatoid arthritis synovium in close association with tissue inflammation. *Arthritis Rheum* 56: 3541–3553. doi: [10.1002/art.22983](https://doi.org/10.1002/art.22983) PMID: [17968929](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17968929/)
22. Nakashima K, Hagiwara T, Yamada M. (2002) Nuclear localization of peptidylarginine deiminase V and histone deimination in granulocytes. *J Biol Chem* 277: 49562–49568. doi: [10.1074/jbc.M208795200](https://doi.org/10.1074/jbc.M208795200) PMID: [12393868](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12393868/)
23. Kochi Y, Yamada R, Kobayashi K, Takahashi A, Suzuki A, Sekine A, et al. (2004) Analysis of single-nucleotide polymorphisms in Japanese rheumatoid arthritis patients shows additional susceptibility markers besides the classic shared epitope susceptibility sequences. *Arthritis Rheum* 50: 63–71. doi: [10.1002/art.11366](https://doi.org/10.1002/art.11366) PMID: [14730600](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14730600/)
24. Barron KS, Silverman ED, Gonzales JC, Owerbach D, Reveille JD. (1992) DNA analysis of HLA-DR, DQ, and DP alleles in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 19: 1611–1616. PMID: [1361203](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1361203/)
25. Clemens LE, Albert E, Ansell BM. (1983) HLA studies in IgM rheumatoid-factor-positive arthritis of childhood. *Ann Rheum Dis* 42: 431–434. PMID: [6603824](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6603824/)
26. Forre O, Dobloug JH, Hoyeraal HM, Thorsby E. (1983) HLA antigens in juvenile arthritis. Genetic basis for the different subtypes. *Arthritis Rheum* 26: 35–38. PMID: [6401993](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6401993/)

27. Nepom BS, Nepom GT, Mickelson E, Schaller JG, Antonelli P, Hansen JA, et al. (1984) Specific HLA-DR4-associated histocompatibility molecules characterize patients with seropositive juvenile rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 74: 287–291. doi: [10.1172/JCI111413](https://doi.org/10.1172/JCI111413) PMID: [6610692](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6610692/)
28. Thomson W, Barrett JH, Donn R, Pepper L, Kennedy LJ, Ollier WE, et al. (2002) Juvenile idiopathic arthritis classified by the ILAR criteria: HLA associations in UK patients. *Rheumatology (Oxford)* 41: 1183–1189.
29. Vehe RK, Begovich AB, Nepom BS. (1990) HLA susceptibility genes in rheumatoid factor positive juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol Suppl* 26: 11–15. PMID: [2082016](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2082016/)
30. Ikari K, Momohara S, Inoue E, Tomatsu T, Hara M, Yamanaka H, et al. (2006) Haplotype analysis revealed no association between the PTPN22 gene and RA in a Japanese population. *Rheumatology (Oxford)* 45: 1345–1348.
31. Lee YH, Bae SC. (2016) Association between susceptibility to rheumatoid arthritis and PADI4 polymorphisms: a meta-analysis. *Clin Rheumatol* 35: 961–971. doi: [10.1007/s10067-015-3098-4](https://doi.org/10.1007/s10067-015-3098-4) PMID: [26474773](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26474773/)
32. Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, Freudenberg J, Lee HS, Jia X, et al. (2012) Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 44: 291–296. doi: [10.1038/ng.1076](https://doi.org/10.1038/ng.1076) PMID: [22286218](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22286218/)
33. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. (1998) Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 101: 273–281. doi: [10.1172/JCI1316](https://doi.org/10.1172/JCI1316) PMID: [9421490](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9421490/)
34. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. (2000) The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 43: 155–163. doi: [10.1002/1529-0131\(200001\)43:1<155::AID-ANR20>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200001)43:1<155::AID-ANR20>3.0.CO;2-3) PMID: [10643712](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10643712/)
35. Syed RH, Gilliam BE, Moore TL. (2008) Rheumatoid factors and anticyclic citrullinated peptide antibodies in pediatric rheumatology. *Curr Rheumatol Rep* 10: 156–163. PMID: [18460272](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18460272/)
36. Lipinska J, Brozik H, Stanczyk J, Smolewska E. (2012) Anticitrullinated protein antibodies and radiological progression in juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 39: 1078–1087. doi: [10.3899/jrheum.110879](https://doi.org/10.3899/jrheum.110879) PMID: [22382337](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22382337/)
37. Scally SW, Petersen J, Law SC, Dudek NL, Nel HJ, Loh KL, et al. (2013) A molecular basis for the association of the HLA-DRB1 locus, citrullination, and rheumatoid arthritis. *J Exp Med* 210: 2569–2582. doi: [10.1084/jem.20131241](https://doi.org/10.1084/jem.20131241) PMID: [24190431](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24190431/)

Treatable renal disease in children with silent lupus nephritis detected by baseline biopsy: association with serum C3 levels

Hiroyuki Wakiguchi^{1,2} · Syuji Takei^{1,3} · Tomohiro Kubota¹ · Akinori Miyazono¹ · Yoshifumi Kawano¹

Received: 2 August 2016 / Revised: 21 October 2016 / Accepted: 20 November 2016 / Published online: 30 November 2016
© International League of Associations for Rheumatology (ILAR) 2016

Abstract Lupus nephritis is identified in up to 75% of patients with juvenile systemic lupus erythematosus and may present with abnormal urinary findings (overt lupus nephritis) or be apparent only upon renal biopsy (silent lupus nephritis). We investigated whether serum complement levels correlate with renal pathology in pediatric patients with silent lupus nephritis. We performed baseline renal biopsy in 45 children diagnosed with juvenile systemic lupus erythematosus who were admitted to Kagoshima University Hospital between January 2000 and June 2015. Patients were classified as having overt or silent lupus nephritis based on urinary findings at renal biopsy. *Silent lupus nephritis was identified in 55.5% (25/45) of cases. Of these, 6 (13.3%) were classified as class III nephritis, according to the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society criteria.* Decreased serum C3 levels were associated with the renal pathology classification for patients with silent but not with overt lupus nephritis. No differences in serum C4 levels were identified between cases of silent and overt lupus nephritis. Baseline renal biopsy is a critical component of the work-up of juvenile systemic lupus erythematosus as treatable renal pathology may be present in the absence of urinary signs. Serum C3 may be an important marker of the progression of silent lupus nephritis.

Keywords Biomarker · Children · Complement · Renal biopsy · Systemic lupus erythematosus

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that can affect multiple organ systems, including the kidneys, central nervous system, hematopoietic system, and skin [1]. Juvenile SLE (JSLE) accounts for 15–20% of all cases of SLE, with lupus nephritis (LN) being a serious complication of JSLE. Identified in 20–75% of patients with JSLE, LN is a predictor of poor disease prognosis [2, 3].

LN-associated activation of an immune response in renal tissue involves multiple factors, including activation of T- and B-lymphocytes, and macrophages and dendritic cells; production of pro-inflammatory cytokines and type I interferons; and deposition of immune complexes in the mesangium and other renal tissues [4]. Notably, serum complement components, such as C1q and C3, are associated with disease activity in JSLE and could potentially be used as biomarkers of LN disease activity in patients with JSLE [5–7]. However, the relationship between serum levels of complement components and renal pathology in LN remains unclear, due in part to an incomplete understanding of the mechanisms underlying renal pathology in LN. Moreover, pediatric patients can present, clinically, with either overt LN (oLN), defined by abnormal urinalysis findings of proteinuria and hematuria, or silent LN (sLN), characterized by normal urinalysis findings.

Decreased serum levels of C3 and C4 complement components have been reported to correlate with disease activity in adults with LN [8–12]. Specifically, C3 deposition in renal tissues correlates with morphological disease classification [13] and is likely to contribute to renal pathology in sLN. Therefore, the goals of our study were to evaluate the

✉ Hiroyuki Wakiguchi
hiroyuki@yamaguchi-u.ac.jp

¹ Department of Pediatrics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan

² Department of Pediatrics, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minamikogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

³ School of Health Science, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima, Japan

importance of baseline renal biopsy in pediatric patients with sLN and to evaluate the association between serum C3 and C4 levels and the renal pathology classification.

Materials and methods

Statement of ethics and description of the study group

Our study conformed to ethical principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the institutional review board at Kagoshima University Hospital, with parents or legal guardians providing informed consent for minors.

The study group consisted of 45 children admitted to the Department of Pediatrics at Kagoshima University Hospital, between January 2000 and June 2015, with a diagnosis of JSLE. All patients fulfilled the revised criteria of the American College of Rheumatology for SLE [14], presenting with at least four of the 11 criteria. As standard of care, all patients underwent renal biopsy, independent of urinalysis findings, at the time of JSLE diagnosis. Patients who had received immunosuppressive therapy prior to renal biopsy were excluded from this study. All the children in the study group were from a Japanese population.

JSLE patients with LN were enrolled and classified into two groups: 20 patients with persistent proteinuria (>0.5 g/day) at the time of renal biopsy were classified as having oLN (1 male, 19 females; 12.4 ± 2.2 years old; median, 12.6 years), with the remaining 25 patients, having no proteinuria and no hematuria, were classified as having sLN (6 males, 19 females; 12.5 ± 2.3 years old; median, 12.0 years).

Laboratory and pathology analyses

Laboratory data, including antibody titers and proteinuria levels, were obtained using the standard methods of our hospital's clinical laboratory. LN diagnosis was confirmed by a single pathologist using hematoxylin–eosin (HE), periodic acid–Schiff (PAS), periodic acid methenamine (PAM), and Masson's trichrome staining, and electron microscopy images. LN class was determined using the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) classification [15].

Complement components

Blood serum was collected prior to renal biopsy and treatment. Blood samples were maintained at room temperature and tested within 30 min of collection. Serum C3 and C4 levels were obtained using commercially available immunity turbidimetric assay kits (C3, catalog# TBA-84A5; C4, catalog# RM73-852TK). All reagents and equipment used for

complement component measurement were purchased from LSI Medience (Tokyo, Japan).

Statistical analysis

Between-group differences were evaluated using the Mann-Whitney *U* test for continuous data and Fisher's exact test for qualitative and ordinal data (SPSS, version 12.0; Chicago, IL). Differences across groups were analyzed using the Steel–Dwass test (R-Statistical Package, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). *P* values <0.05 were considered to be statistically significant.

Results

Clinical features and laboratory data for both groups are listed in Table 1. All patients who underwent biopsy had some evidence of LN pathology. The distribution of ISN/RPS classes of LN in the oLN group was as follows: class I, 0%; class II, 25% (5 patients); class III, 55% (11 patients); and class IV, 20% (4 patients). The distribution in the sLN group was as follows: class I, 12% (3 patients); class II, 64% (16 patients); class III, 24% (6 patients); and class IV, 0% (Fig. 1).

Serum levels of C3 and C4 were comparable between oLN and sLN groups, when LN class was not considered (Table 1). Serum C3 and C4 levels are reported by LN class in Fig. 2a–d. For the sLN group, serum C3 levels varied between LN classes, with significantly lower levels for patients in class III compared to class II and for class II compared to class I (Fig. 2a). In contrast, in the oLN group, serum C3 levels were comparable between patients in classes II, III, and IV (Fig. 2b). There was no significant difference in serum C3 levels between the oLN and sLN groups for a given class: class II, $P = 0.592$, and class III, $P = 0.615$. Serum C4 levels were comparable across the four classes of LN in both the sLN (Fig. 2c) and oLN (Fig. 2d) groups.

Discussion

LN is an immune complex-mediated glomerulonephritis [2]. Despite progress in understanding the pathogenesis of LN, our understanding of the pathophysiology of sLN, in which SLE-associated glomerulonephritis exists in the absence of abnormal urinalysis, is limited, especially in pediatric patients. Our study underscores the importance of baseline renal biopsy, with 6/25 patients (24%) diagnosed with a class III LN in the absence of significant proteinuria or casts on light microscopy. Baseline biopsy in patients with JSLE without urinary symptoms, therefore, may alter treatment decisions. Patients with a LN class

Table 1 Clinical features and laboratory data of the study group

	oLN (n = 20)	sLN (n = 25)	P value oLN versus sLN
Male, n (%)	1 (5.0)	6 (24.0)	0.112 [#]
Median age, years (range)	12.6 (7.9–15.9)	12.0 (8.0–15.9)	0.811 ^{***}
Proteinuria, n (%)	20 (100.0)	0 (0.0)	<0.001 ^{#*}
C3, mg/dL ^{**}	50.6 ± 34.6	56.3 ± 27.6	0.299 ^{***}
C4, mg/dL ^{**}	6.2 ± 5.2	5.1 ± 3.7	0.591 ^{***}
Anti-dsDNA antibody, IU/mL ^{**}	166.5 ± 166.8	153.2 ± 152.6	0.875 ^{***}
Anti-Sm antibody, U/mL ^{**}	52.0 ± 97.6	72.5 ± 69.8	0.121 ^{***}
Anti-RNP antibody, U/mL ^{**}	53.6 ± 92.9	63.9 ± 61.7	0.318 ^{***}
Anti-SSA antibody, U/mL ^{**}	148.8 ± 277.9	230.6 ± 422.0	0.779 ^{***}
Anti-SSB antibody, U/mL ^{**}	21.0 ± 43.3	61.8 ± 221.5	0.391 ^{***}
ISN/RPS classification			
Class I, n (%)	0 (0.0)	3 (12.0)	0.242 [#]
Class II, n (%)	5 (25.0)	16 (64.0)	0.016 ^{#*}
Class III, n (%)	11 (55.0)	6 (24.0)	0.062 [#]
Class IV, n (%)	4 (20.0)	0 (0.0)	0.033 ^{#*}
Class I and II, n (%)	5 (25.0)	19 (76.0)	0.001 ^{#*}
Class III and IV, n (%)	15 (75.0)	6 (24.0)	0.001 ^{#*}

LN lupus nephritis, oLN overt LN, sLN silent LN

*Significant at P < 0.05

**Data are presented as mean ± standard deviation

***Mann-Whitney U test

[#]Fisher's exact test

≥III would be eligible for immunosuppressive therapy, whereas patients with a LN class <III would not be.

Serum C3 as a marker of silent LN

Prognostic biomarkers of SLE and LN have primarily been investigated in adults, in whom active nephritis and levels of certain autoantibodies, such as anti-C1q, are clearly correlated [8, 10, 16, 17], with a further association between low C3 and C4 levels and LN disease activity [8–12]. However, a specific correlation between low complement component levels and the development of other organ involvement has been less

clear. Serum complement components, such as C1q and C3, have been associated with overall SLE disease activity in children [7, 18, 19], with a decrease in serum C3 being a risk factor for LN [20]. The potential role of complement component levels as biomarkers in pediatric sLN has not been fully elucidated.

We analyzed serum C3 and C4 levels in children with oLN and sLN, reporting, for the first time, a significant decrease in serum levels of C3, but not C4, which was associated with the ISN/RPS class in patients with sLN. Our findings agree with those of Klein et al. [21] who identified a correlation between serum levels of C3, but not C4, and renal pathology in

Fig. 1 Flow chart showing the distribution of ISN/RPS classes of LN in all patients who underwent biopsy

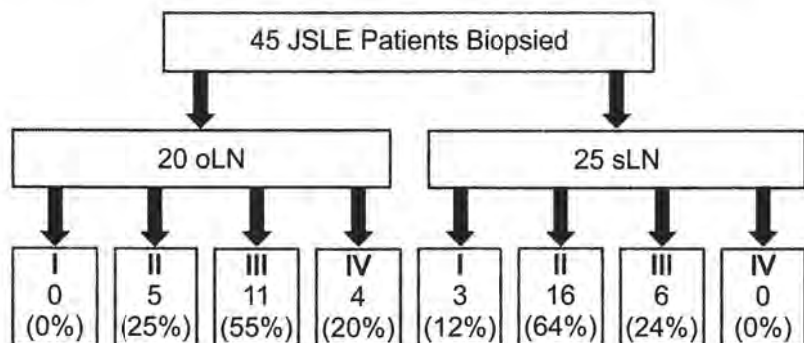
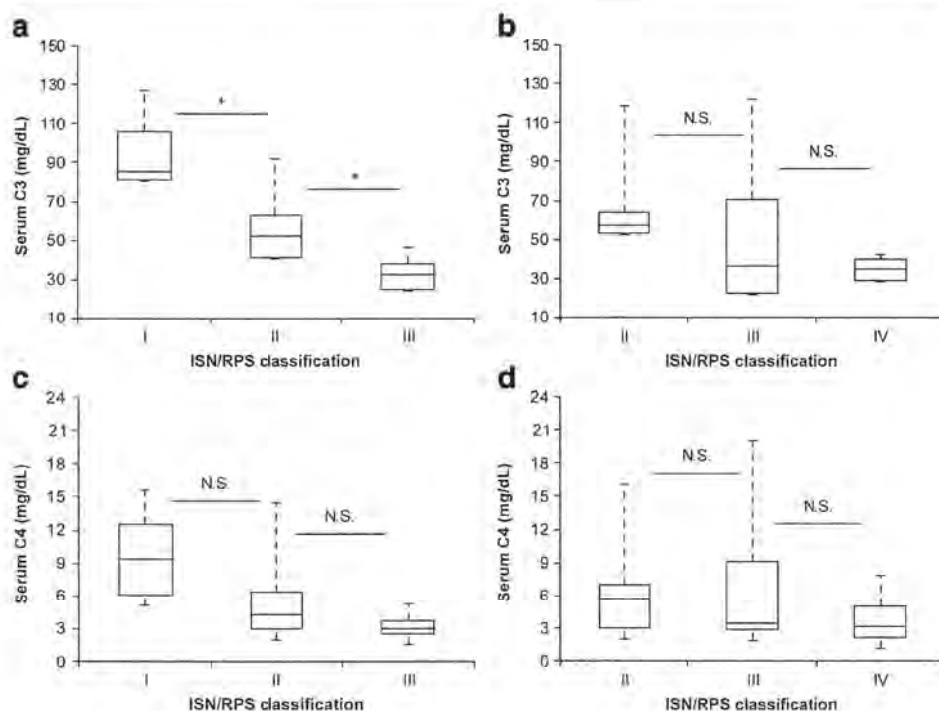


Fig. 2 Relationship between serum complement levels and ISN/RPS classification. Serum levels of C3 (a, b) and C4 (c, d) were measured prior to treatment in patients in both the sLN (a, c) and oLN (b, d) groups using an immunity turbidimetric assay and analyzed according to LN class as determined by renal biopsy. Data are presented as the first to third quartile (box) and median (horizontal line), with whiskers indicating minimum and maximum values; asterisk indicates significant at $P < 0.05$ by the Steel-Dwass test. N.S. not significant



pediatric patients with LN. Marks et al. [3] also reported that patients with JSLE and class IV LN tended to have lower serum C3, but not C4, levels. However, we did not identify differences in either C3 or C4 levels by ISN/RPS class in patients with oLN. It is possible that the relatively small number of patients in each group and/or the difference in classification system used (i.e., World Health Organization, WHO versus ISN/RPS) contributed to this difference between studies. We also did not identify a between-group difference in C3 levels when ISN/RPS class was not considered, or by LN class between oLN and sLN groups. These findings are in contrast with the previous research by Zabaleta-Lanz et al. who reported significant differences in C3 levels in adult patients with oLN versus sLN [22]. Additional research is required to clarify whether contrasting findings reflect small sample sizes in both studies or fundamental differences in the pathogenesis of LN between pediatric and adult forms of SLE.

Our study provides level IV evidence of an association between decreased serum C3 levels and renal pathology in pediatric patients with sLN. The role of renal complement component deposition in LN pathogenesis has been established in animal models and human disease [3, 12]. This study provides further evidence that decreased serum C3 levels in patients with sLN may be due to consumption of C3 by activated autoimmune processes, rather than to an underlying deficiency in C3. We propose that serum C3 levels may be useful as an indicator of poor outcome in children with sLN.

Since class II/III oLN C3 levels were similar to those in class II/III sLN, C3 consumption is likely present in our oLN

patients as well. However, this does not explain our finding that serum C3 levels did not differ among ISN/RPS classification in the oLN group. In a longitudinal study of adults with LN, Wada et al. reported that decreased serum C3 levels in patients with sLN, together with elevated levels of anti-dsDNA autoantibodies, preceded the progression from sLN to oLN by approximately 24 months [23]. Additional studies are needed to clarify the protective versus destructive roles of C3, both in sLN pathology and in the development of oLN from previously silent disease in pediatric patients with LN. Our study was a small, single-center study, investigating an ethnically homogeneous group of patients. Our findings should be validated in larger, multi-center studies with an ethnically diverse cohort.

In conclusion, we report that substantial numbers of pediatric patients diagnosed with JSLE without urinary signs nevertheless have treatable renal disease. In addition, serum C3 levels are significantly associated with the ISN/RPS classification in pediatric patients with sLN. Serum C3 levels, in combination with other biomarkers, could be useful to identify the need for renal biopsy and to predict risk of disease progression from sLN to oLN in pediatric patients. Further studies are warranted to confirm our findings in a larger clinical population and to determine appropriate testing guidelines and treatment strategies for pediatric patients with sLN.

Acknowledgements We sincerely thank our volunteers for their participation in this study. We thank StaGen for the expert assistance with statistical analysis, and Editage for English language editing. We also

thank the following: Dr. Satoshi Hisano (Department of Pathology, Faculty of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan) for performing the renal pathology studies; Dr. Masaki Shimizu (Department of Pediatrics, School of Medicine, Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, Kanazawa, Japan) for the helpful discussions; and Drs. Yasuhito Nerome, Yuichi Yamasaki, Yukiko Nonaka, Tsuyoshi Yamatou, Hiroyuki Imanaka, Tomoko Takezaki, and Harumi Akaike (Department of Pediatrics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan) for the clinical assistance.

Compliance with ethical standards

Funding information No financial assistance was received to support this study.

Disclosures None.

References

- Cervera R, Khamashta MA, Font J et al (1993) Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European working party on systemic lupus erythematosus. *Medicine* 72:113–124
- Hiraki LT, Lu B, Alexander SR et al (2011) End-stage renal disease due to lupus nephritis among children in the US, 1995–2006. *Arthritis Rheum* 63:1988–1997
- Marks SD, Sebire NJ, Pilkington C et al (2007) Clinicopathological correlations of paediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol* 22:77–83
- Lech M, Anders HJ (2013) The pathogenesis of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 24:1357–1366
- Yap DY, Yung S, Zhang Q et al (2014) Mesangial cell-binding activity of serum immunoglobulin g in patients with lupus nephritis. *PLoS One* 9:e101987
- Watson L, Beresford MW (2013) Urine biomarkers in juvenile-onset SLE nephritis. *Pediatr Nephrol* 28:363–374
- Abdel Kader MS, Abd Elaziz MM, Ahmed DH (2012) Role of serum anti-C1q antibodies as a biomarker for nephritis activity in pediatric and adolescent Egyptian female patients with SLE. *Expert Opin Med Diagn* 6:489–498
- Julkunen H, Ekblom-Kullberg S, Miettinen A (2012) Nonrenal and renal activity of systemic lupus erythematosus: a comparison of two anti-C1q and five anti-dsDNA assays and complement C3 and C4. *Rheum Int* 32:2445–2451
- Ishizaki J, Saito K, Nawata M et al (2015) Low complements and high titre of anti-Sm antibody as predictors of histopathologically proven silent lupus nephritis without abnormal urinalysis in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 54:405–412
- Oelzner P, Deliyiska B, Fünfstück R et al (2003) Anti-C1q antibodies and antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus - relationship with disease activity and renal involvement. *Clin Rheumatol* 22:271–278
- Amezcu-Guerra LM, Springall R, Arrieta-Alvarado AA et al (2011) C-reactive protein and complement components but not other acute-phase reactants discriminate between clinical subsets and organ damage in systemic lupus erythematosus. *Clin Lab* 57:607–613
- Birmingham DJ, Irshaid F, Nagaraja HN et al (2010) The complex nature of serum C3 and C4 as biomarkers of lupus renal flare. *Lupus* 19:1272–1280
- Hill GS, Hinglais N, Tron F et al (1978) Systemic lupus erythematosus. Morphologic correlations with immunologic and clinical data at the time of biopsy. *Am J Med* 64:61–79
- Hochberg MC (1997) Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1725
- Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM et al (2004) The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 15:241–250
- Akhier E, Burlingame RW, Seaman AL et al (2011) Anti-C1q antibodies have higher correlation with flares of lupus nephritis than other serum markers. *Lupus* 20:1267–1274
- Cai X, Yang X, Lian F et al (2010) Correlation between serum anti-C1q antibody levels and renal pathological characteristics and prognostic significance of anti-C1q antibody in lupus nephritis. *J Rheumatol* 37:759–765
- Wu FQ, Zhao Q, Cui XD et al (2011) C1q and anti-C1q antibody levels are correlated with disease severity in Chinese pediatric systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 31:501–505
- Singsen BH, Bernstein BH, King KK et al (1976) Systemic lupus erythematosus in childhood correlations between changes in disease activity and serum complement levels. *J Pediatr* 89:358–369
- Baqi N, Moazami S, Singh A et al (1996) Lupus nephritis in children: a longitudinal study of prognostic factors and therapy. *J Am Soc Nephrol* 7:924–929
- Klein MH, Thomer PS, Yoon SJ et al (1984) Determination of circulating immune complexes, C3 and C4 complement components and anti-DNA antibody in different classes of lupus nephritis. *Int J Pediatr Nephrol* 5:75–82
- Zabaleta-Lanz M, Vargas-Arenas RE, Tápanes F et al (2003) Silent nephritis in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 12:26–30
- Wada Y, Ito S, Ueno M et al (2004) Renal outcome and predictors of clinical renal involvement in patients with silent lupus nephritis. *Nephron Clin Pract* 98:105–111

BRIEF REPORT

Treatable renal disease in children with silent lupus nephritis detected by baseline biopsy: association with serum C3 levels

Hiroyuki Wakiguchi^{1,2} · Syuji Takei^{1,3} · Tomohiro Kubota¹ · Akinori Miyazono¹ · Yoshifumi Kawano¹

Received: 2 August 2016 / Revised: 21 October 2016 / Accepted: 20 November 2016 / Published online: 30 November 2016
© International League of Associations for Rheumatology (ILAR) 2016

Abstract Lupus nephritis is identified in up to 75% of patients with juvenile systemic lupus erythematosus and may present with abnormal urinary findings (overt lupus nephritis) or be apparent only upon renal biopsy (silent lupus nephritis). We investigated whether serum complement levels correlate with renal pathology in pediatric patients with silent lupus nephritis. We performed baseline renal biopsy in 45 children diagnosed with juvenile systemic lupus erythematosus who were admitted to Kagoshima University Hospital between January 2000 and June 2015. Patients were classified as having overt or silent lupus nephritis based on urinary findings at renal biopsy. *Silent lupus nephritis was identified in 55.5% (25/45) of cases. Of these, 6 (13.3%) were classified as class III nephritis, according to the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society criteria.* Decreased serum C3 levels were associated with the renal pathology classification for patients with silent but not with overt lupus nephritis. No differences in serum C4 levels were identified between cases of silent and overt lupus nephritis. Baseline renal biopsy is a critical component of the work-up of juvenile systemic lupus erythematosus as treatable renal pathology may be present in the absence of urinary signs. Serum C3 may be an important marker of the progression of silent lupus nephritis.

Keywords Biomarker · Children · Complement · Renal biopsy · Systemic lupus erythematosus

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that can affect multiple organ systems, including the kidneys, central nervous system, hematopoietic system, and skin [1]. Juvenile SLE (JSLE) accounts for 15–20% of all cases of SLE, with lupus nephritis (LN) being a serious complication of JSLE. Identified in 20–75% of patients with JSLE, LN is a predictor of poor disease prognosis [2, 3].

LN-associated activation of an immune response in renal tissue involves multiple factors, including activation of T- and B-lymphocytes, and macrophages and dendritic cells; production of pro-inflammatory cytokines and type I interferons; and deposition of immune complexes in the mesangium and other renal tissues [4]. Notably, serum complement components, such as C1q and C3, are associated with disease activity in JSLE and could potentially be used as biomarkers of LN disease activity in patients with JSLE [5–7]. However, the relationship between serum levels of complement components and renal pathology in LN remains unclear, due in part to an incomplete understanding of the mechanisms underlying renal pathology in LN. Moreover, pediatric patients can present, clinically, with either overt LN (oLN), defined by abnormal urinalysis findings of proteinuria and hematuria, or silent LN (sLN), characterized by normal urinalysis findings.

Decreased serum levels of C3 and C4 complement components have been reported to correlate with disease activity in adults with LN [8–12]. Specifically, C3 deposition in renal tissues correlates with morphological disease classification [13] and is likely to contribute to renal pathology in sLN. Therefore, the goals of our study were to evaluate the

✉ Hiroyuki Wakiguchi
hiroyuki@yamaguchi-u.ac.jp

¹ Department of Pediatrics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan

² Department of Pediatrics, Yamaguchi University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Minamikogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan

³ School of Health Science, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima, Japan

importance of baseline renal biopsy in pediatric patients with sLN and to evaluate the association between serum C3 and C4 levels and the renal pathology classification.

Materials and methods

Statement of ethics and description of the study group

Our study conformed to ethical principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the institutional review board at Kagoshima University Hospital, with parents or legal guardians providing informed consent for minors.

The study group consisted of 45 children admitted to the Department of Pediatrics at Kagoshima University Hospital, between January 2000 and June 2015, with a diagnosis of JSLE. All patients fulfilled the revised criteria of the American College of Rheumatology for SLE [14], presenting with at least four of the 11 criteria. As standard of care, all patients underwent renal biopsy, independent of urinalysis findings, at the time of JSLE diagnosis. Patients who had received immunosuppressive therapy prior to renal biopsy were excluded from this study. All the children in the study group were from a Japanese population.

JSLE patients with LN were enrolled and classified into two groups: 20 patients with persistent proteinuria (>0.5 g/day) at the time of renal biopsy were classified as having oLN (1 male, 19 females; 12.4 ± 2.2 years old; median, 12.6 years), with the remaining 25 patients, having no proteinuria and no hematuria, were classified as having sLN (6 males, 19 females; 12.5 ± 2.3 years old; median, 12.0 years).

Laboratory and pathology analyses

Laboratory data, including antibody titers and proteinuria levels, were obtained using the standard methods of our hospital's clinical laboratory. LN diagnosis was confirmed by a single pathologist using hematoxylin–eosin (HE), periodic acid–Schiff (PAS), periodic acid methenamine (PAM), and Masson's trichrome staining, and electron microscopy images. LN class was determined using the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) classification [15].

Complement components

Blood serum was collected prior to renal biopsy and treatment. Blood samples were maintained at room temperature and tested within 30 min of collection. Serum C3 and C4 levels were obtained using commercially available immunity turbidimetric assay kits (C3, catalog# TBA-84A5; C4, catalog# RM73-852TK). All reagents and equipment used for

complement component measurement were purchased from LSI Medience (Tokyo, Japan).

Statistical analysis

Between-group differences were evaluated using the Mann-Whitney *U* test for continuous data and Fisher's exact test for qualitative and ordinal data (SPSS, version 12.0; Chicago, IL). Differences across groups were analyzed using the Steel–Dwass test (R-Statistical Package, R Foundation for Statistical Computing, Vienna Austria). *P* values <0.05 were considered to be statistically significant.

Results

Clinical features and laboratory data for both groups are listed in Table 1. All patients who underwent biopsy had some evidence of LN pathology. The distribution of ISN/RPS classes of LN in the oLN group was as follows: class I, 0%; class II, 25% (5 patients); class III, 55% (11 patients); and class IV, 20% (4 patients). The distribution in the sLN group was as follows: class I, 12% (3 patients); class II, 64% (16 patients); class III, 24% (6 patients); and class IV, 0% (Fig. 1).

Serum levels of C3 and C4 were comparable between oLN and sLN groups, when LN class was not considered (Table 1). Serum C3 and C4 levels are reported by LN class in Fig. 2a–d. For the sLN group, serum C3 levels varied between LN classes, with significantly lower levels for patients in class III compared to class II and for class II compared to class I (Fig. 2a). In contrast, in the oLN group, serum C3 levels were comparable between patients in classes II, III, and IV (Fig. 2b). There was no significant difference in serum C3 levels between the oLN and sLN groups for a given class: class II, $P = 0.592$, and class III, $P = 0.615$. Serum C4 levels were comparable across the four classes of LN in both the sLN (Fig. 2c) and oLN (Fig. 2d) groups.

Discussion

LN is an immune complex-mediated glomerulonephritis [2]. Despite progress in understanding the pathogenesis of LN, our understanding of the pathophysiology of sLN, in which SLE-associated glomerulonephritis exists in the absence of abnormal urinalysis, is limited, especially in pediatric patients. Our study underscores the importance of baseline renal biopsy, with 6/25 patients (24%) diagnosed with a class III LN in the absence of significant proteinuria or casts on light microscopy. Baseline biopsy in patients with JSLE without urinary symptoms, therefore, may alter treatment decisions. Patients with a LN class

Table 1 Clinical features and laboratory data of the study group

	oLN (n = 20)	sLN (n = 25)	P value oLN versus sLN
Male, n (%)	1 (5.0)	6 (24.0)	0.112 [#]
Median age, years (range)	12.6 (7.9–15.9)	12.0 (8.0–15.9)	0.811 ^{***}
Proteinuria, n (%)	20 (100.0)	0 (0.0)	<0.001 ^{#*}
C3, mg/dL ^{**}	50.6 ± 34.6	56.3 ± 27.6	0.299 ^{***}
C4, mg/dL ^{**}	6.2 ± 5.2	5.1 ± 3.7	0.591 ^{***}
Anti-dsDNA antibody, IU/mL ^{**}	166.5 ± 166.8	153.2 ± 152.6	0.875 ^{***}
Anti-Sm antibody, U/mL ^{**}	52.0 ± 97.6	72.5 ± 69.8	0.121 ^{***}
Anti-RNP antibody, U/mL ^{**}	53.6 ± 92.9	63.9 ± 61.7	0.318 ^{***}
Anti-SSA antibody, U/mL ^{**}	148.8 ± 277.9	230.6 ± 422.0	0.779 ^{***}
Anti-SSB antibody, U/mL ^{**}	21.0 ± 43.3	61.8 ± 221.5	0.391 ^{***}
ISN/RPS classification			
Class I, n (%)	0 (0.0)	3 (12.0)	0.242 [#]
Class II, n (%)	5 (25.0)	16 (64.0)	0.016 ^{#*}
Class III, n (%)	11 (55.0)	6 (24.0)	0.062 [#]
Class IV, n (%)	4 (20.0)	0 (0.0)	0.033 ^{#*}
Class I and II, n (%)	5 (25.0)	19 (76.0)	0.001 ^{#*}
Class III and IV, n (%)	15 (75.0)	6 (24.0)	0.001 ^{#*}

LN lupus nephritis, oLN overt LN, sLN silent LN

*Significant at P < 0.05

**Data are presented as mean ± standard deviation

***Mann-Whitney U test

[#]Fisher’s exact test

≥III would be eligible for immunosuppressive therapy, whereas patients with a LN class <III would not be.

Serum C3 as a marker of silent LN

Prognostic biomarkers of SLE and LN have primarily been investigated in adults, in whom active nephritis and levels of certain autoantibodies, such as anti-C1q, are clearly correlated [8, 10, 16, 17], with a further association between low C3 and C4 levels and LN disease activity [8–12]. However, a specific correlation between low complement component levels and the development of other organ involvement has been less

clear. Serum complement components, such as C1q and C3, have been associated with overall SLE disease activity in children [7, 18, 19], with a decrease in serum C3 being a risk factor for LN [20]. The potential role of complement component levels as biomarkers in pediatric sLN has not been fully elucidated.

We analyzed serum C3 and C4 levels in children with oLN and sLN, reporting, for the first time, a significant decrease in serum levels of C3, but not C4, which was associated with the ISN/RPS class in patients with sLN. Our findings agree with those of Klein et al. [21] who identified a correlation between serum levels of C3, but not C4, and renal pathology in

Fig. 1 Flow chart showing the distribution of ISN/RPS classes of LN in all patients who underwent biopsy

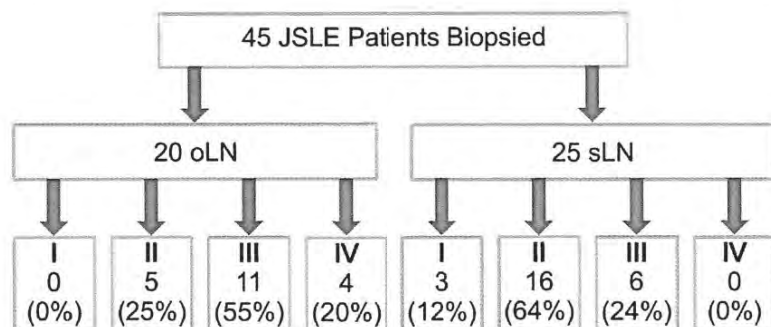
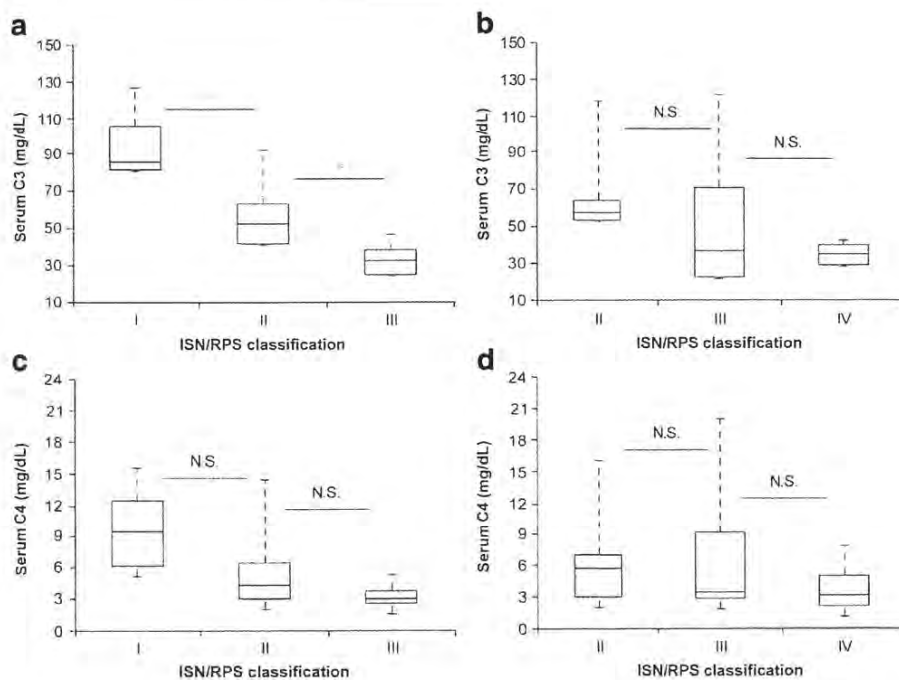


Fig. 2 Relationship between serum complement levels and ISN/RPS classification. Serum levels of C3 (a, b) and C4 (c, d) were measured prior to treatment in patients in both the sLN (a, c) and oLN (b, d) groups using an immunity turbidimetric assay and analyzed according to LN class as determined by renal biopsy. Data are presented as the first to third quartile (box) and median (horizontal line), with whiskers indicating minimum and maximum values; asterisk indicates significant at $P < 0.05$ by the Steel-Dwass test. N.S. not significant



pediatric patients with LN. Marks et al. [3] also reported that patients with JSLE and class IV LN tended to have lower serum C3, but not C4, levels. However, we did not identify differences in either C3 or C4 levels by ISN/RPS class in patients with oLN. It is possible that the relatively small number of patients in each group and/or the difference in classification system used (i.e., World Health Organization, WHO versus ISN/RPS) contributed to this difference between studies. We also did not identify a between-group difference in C3 levels when ISN/RPS class was not considered, or by LN class between oLN and sLN groups. These findings are in contrast with the previous research by Zabaleta-Lanz et al. who reported significant differences in C3 levels in adult patients with oLN versus sLN [22]. Additional research is required to clarify whether contrasting findings reflect small sample sizes in both studies or fundamental differences in the pathogenesis of LN between pediatric and adult forms of SLE.

Our study provides level IV evidence of an association between decreased serum C3 levels and renal pathology in pediatric patients with sLN. The role of renal complement component deposition in LN pathogenesis has been established in animal models and human disease [3, 12]. This study provides further evidence that decreased serum C3 levels in patients with sLN may be due to consumption of C3 by activated autoimmune processes, rather than to an underlying deficiency in C3. We propose that serum C3 levels may be useful as an indicator of poor outcome in children with sLN.

Since class II/III oLN C3 levels were similar to those in class II/III sLN, C3 consumption is likely present in our oLN

patients as well. However, this does not explain our finding that serum C3 levels did not differ among ISN/RPS classification in the oLN group. In a longitudinal study of adults with LN, Wada et al. reported that decreased serum C3 levels in patients with sLN, together with elevated levels of anti-dsDNA autoantibodies, preceded the progression from sLN to oLN by approximately 24 months [23]. Additional studies are needed to clarify the protective versus destructive roles of C3, both in sLN pathology and in the development of oLN from previously silent disease in pediatric patients with LN. Our study was a small, single-center study, investigating an ethnically homogeneous group of patients. Our findings should be validated in larger, multi-center studies with an ethnically diverse cohort.

In conclusion, we report that substantial numbers of pediatric patients diagnosed with JSLE without urinary signs nevertheless have treatable renal disease. In addition, serum C3 levels are significantly associated with the ISN/RPS classification in pediatric patients with sLN. Serum C3 levels, in combination with other biomarkers, could be useful to identify the need for renal biopsy and to predict risk of disease progression from sLN to oLN in pediatric patients. Further studies are warranted to confirm our findings in a larger clinical population and to determine appropriate testing guidelines and treatment strategies for pediatric patients with sLN.

Acknowledgements We sincerely thank our volunteers for their participation in this study. We thank SaGen for the expert assistance with statistical analysis, and Editage for English language editing. We also

thank the following: Dr. Satoshi Hisano (Department of Pathology, Faculty of Medicine, Fukuoka University, Fukuoka, Japan) for performing the renal pathology studies; Dr. Masaki Shimizu (Department of Pediatrics, School of Medicine, Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences, Kanazawa University, Kanazawa, Japan) for the helpful discussions; and Drs. Yasuhito Nerome, Yuichi Yamasaki, Yukiko Nonaka, Tsuyoshi Yamatou, Hiroyuki Imanaka, Tomoko Takezaki, and Harumi Akaike (Department of Pediatrics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan) for the clinical assistance.

Compliance with ethical standards

Funding information No financial assistance was received to support this study.

Disclosures None.

References

- Cervera R, Khamashta MA, Font J et al (1993) Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European working party on systemic lupus erythematosus. *Medicine* 72:113–124
- Hiraki LT, Lu B, Alexander SR et al (2011) End-stage renal disease due to lupus nephritis among children in the US, 1995–2006. *Arthritis Rheum* 63:1988–1997
- Marks SD, Sebire NJ, Pilkington C et al (2007) Clinicopathological correlations of paediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol* 22:77–83
- Lech M, Anders HJ (2013) The pathogenesis of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 24:1357–1366
- Yap DY, Yung S, Zhang Q et al (2014) Mesangial cell-binding activity of serum immunoglobulin g in patients with lupus nephritis. *PLoS One* 9:e101987
- Watson L, Beresford MW (2013) Urine biomarkers in juvenile-onset SLE nephritis. *Pediatr Nephrol* 28:363–374
- Abdel Kader MS, Abd Elaziz MM, Ahmed DH (2012) Role of serum anti-C1q antibodies as a biomarker for nephritis activity in pediatric and adolescent Egyptian female patients with SLE. *Expert Opin Med Diagn* 6:489–498
- Julkunen H, Ekblom-Kullberg S, Miettinen A (2012) Nonrenal and renal activity of systemic lupus erythematosus: a comparison of two anti-C1q and five anti-dsDNA assays and complement C3 and C4. *Rheum Int* 32:2445–2451
- Ishizaki J, Saito K, Nawata M et al (2015) Low complements and high titre of anti-Sm antibody as predictors of histopathologically proven silent lupus nephritis without abnormal urinalysis in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 54:405–412
- Oelzner P, Deliyyska B, Fünfstück R et al (2003) Anti-C1q antibodies and antiendothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus - relationship with disease activity and renal involvement. *Clin Rheumatol* 22:271–278
- Amezcu-Guerra LM, Springall R, Arrieta-Alvarado AA et al (2011) C-reactive protein and complement components but not other acute-phase reactants discriminate between clinical subsets and organ damage in systemic lupus erythematosus. *Clin Lab* 57:607–613
- Birmingham DJ, Ishaid F, Nagaraja HN et al (2010) The complex nature of serum C3 and C4 as biomarkers of lupus renal flare. *Lupus* 19:1272–1280
- Hill GS, Hinglais N, Tron F et al (1978) Systemic lupus erythematosus. Morphologic correlations with immunologic and clinical data at the time of biopsy. *Am J Med* 64:61–79
- Hochberg MC (1997) Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 40:1725
- Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM et al (2004) The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 15:241–250
- Akhter E, Burlingame RW, Seaman AL et al (2011) Anti-C1q antibodies have higher correlation with flares of lupus nephritis than other serum markers. *Lupus* 20:1267–1274
- Cai X, Yang X, Lian F et al (2010) Correlation between serum anti-C1q antibody levels and renal pathological characteristics and prognostic significance of anti-C1q antibody in lupus nephritis. *J Rheumatol* 37:759–765
- Wu FQ, Zhao Q, Cui XD et al (2011) C1q and anti-C1q antibody levels are correlated with disease severity in Chinese pediatric systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 31:501–505
- Singsen BH, Bernstein BH, King KK et al (1976) Systemic lupus erythematosus in childhood correlations between changes in disease activity and serum complement levels. *J Pediatr* 89:358–369
- Baqi N, Moazami S, Singh A et al (1996) Lupus nephritis in children: a longitudinal study of prognostic factors and therapy. *J Am Soc Nephrol* 7:924–929
- Klein MH, Thorner PS, Yoon SJ et al (1984) Determination of circulating immune complexes, C3 and C4 complement components and anti-DNA antibody in different classes of lupus nephritis. *Int J Pediatr Nephrol* 5:75–82
- Zabaleta-Lanz M, Vargas-Arenas RE, Tápanes F et al (2003) Silent nephritis in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 12:26–30
- Wada Y, Ito S, Ueno M et al (2004) Renal outcome and predictors of clinical renal involvement in patients with silent lupus nephritis. *Nephron Clin Pract* 98:105–111

CASE REPORT

Anasarca as the initial symptom in a Japanese girl with Sjögren's syndrome

Masahiro Ueki^a, Ichiro Kobayashi^{a,b}, Yusuke Tozawa^a, Shohei Konishi^c, Shunichiro Takezaki^a, Takayuki Okamoto^a, Masafumi Yamada^a and Tadashi Ariga^a

^aDepartment of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan; ^bCenter for Pediatric Allergy and Rheumatology, KKR Medical Center, Sapporo, Japan; ^cDepartment of Pediatrics, Chitose City Hospital, Chitose, Japan

ABSTRACT

Generalised oedema, or anasarca, is a rare complication of systemic lupus erythematosus (SLE) and Sjögren's syndrome (SS) and usually results from nephrotic syndrome or protein-losing enteropathy. We report a 14-year-old girl presented with anasarca and persistent fever. Despite hypoalbuminemia, no or little protein loss was observed in her urine or stool. She was diagnosed as having SS by positive anti-SSA antibodies and ductal dilation and glandular destruction of her parotid gland on magnetic resonance sialography. Elevated levels of serum C-reactive protein, ferritin and plasma D-dimer suggested that systemic inflammation caused anasarca by both decreased production of albumin and hyperpermeability associated with vascular endothelial damage similar to systemic capillary leak syndrome. Methylprednisolone pulse therapy and low-dose intravenous cyclophosphamide therapy followed by oral prednisolone and azathioprine were effective.

ARTICLE HISTORY

Received 25 November 2016
Accepted 6 January 2017

KEYWORDS

Anasarca; systemic lupus erythematosus; Sjögren's syndrome; systemic inflammation; systemic capillary leak syndrome

Introduction

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune inflammatory disease characterised by skin erythema and multiple organ involvement associated with an array of autoantibodies. Systemic manifestations of the disease such as fever, generalised lymphadenopathy and renal involvement are more common in childhood SLE than in adult cases [1,2].

Sjögren's syndrome (SS) is an autoimmune disease predominantly affecting glandular tissues. SS develops in association with or without other connective tissue diseases, designated as secondary or primary SS, respectively. Although both dry eyes and dry mouth are characteristics of SS, some patients demonstrate extraglandular manifestations such as fever, fatigue, myalgia and arthralgia [3,4]. Children with SS often lack glandular symptoms except parotid swelling and are commonly presented with the extraglandular manifestations associated with positive anti-SS-A and/or anti-SS-B antibody [5,6].

Generalised oedema, or anasarca, is a rare complication of SLE and SS, which usually results from complicating nephrotic lupus nephritis or protein-losing enteropathy [1–4]. We report a 14-year-old Japanese girl with SS possibly associated with SLE who presented with anasarca despite lack of nephrotic syndrome or protein-losing enteropathy.

The patient and her parents gave informed consent prior to submission of this article.

Patient presentation

A 14-year-old girl was referred to our hospital because of fever persisting for 12 days, lymphocytopenia, thrombocytopenia, pleural effusion, ascites and anasarca. She was 156.0 cm in height and weighed 65.0 kg, gaining 2.0 kg after the onset. On admission, she demonstrated mild tachypnoea, hepatosplenomegaly and erythema on her right cheek. There were no gastrointestinal manifestations such as diarrhoea or vomiting. Laboratory examination demonstrated erythrocyte sedimentation rate 69 mm/h, white blood cell counts 5400/μl with 73% of neutrophils, haemoglobin 115 g/l, haematocrit 33.6%, platelet count $46 \times 10^3/\mu\text{l}$. Biochemical findings were as follows; total protein 47 g/l, albumin 15 g/l, aspartate aminotransferase (AST) 200 IU/l, alanine aminotransferase (ALT) 130 IU/l, lactate dehydrogenase 483 IU/l, creatine phosphokinase 26 IU/l, urea nitrogen 130 mg/l, creatinine 9.3 mg/l, C-reactive protein (CRP) 195.5 mg/l, C3 10.8 g/l, C4 1.3 g/l, CH50 54.8 U/ml, ferritin 967 ng/ml, and soluble IL-2-R 1326 U/ml. Coagulation studies showed prothrombin time 16.8 s, activated partial



Figure 1. Chest CT scan. Chest CT scan demonstrated bilateral pleural effusion and perihepatic ascites without enhancement.

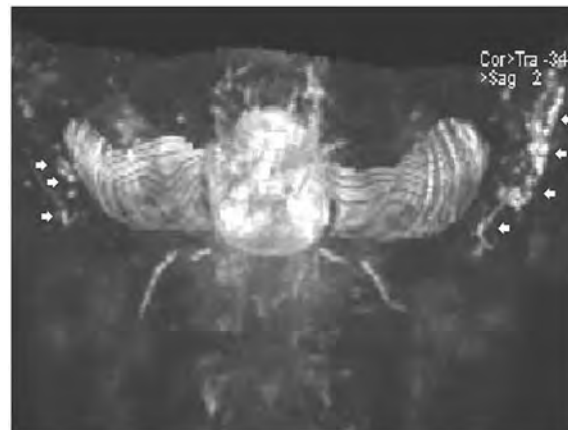


Figure 2. MR-sialography showed ductal dilation and mild glandular destruction of parotid gland with left side dominance (arrows).

thromboplastin time 33.1 s, fibrinogen 5.73 g/l, D-dimer 7.03 $\mu\text{g/ml}$. Immunological tests demonstrated positive anti-nuclear (1:320) and anti-SS-A antibody (125.5 index) but negative for other autoantibodies including platelet-associated IgG, anti-SS-B, anti-double-strand DNA, anti-Sm, anti-phospholipid and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. No myositis-specific autoantibodies were detected by RNA-immunoprecipitation or immunoprecipitation-Western blot methods. Urinalysis demonstrated specific gravity over 1.040, but no proteinuria, haematuria or glycosuria. Bone marrow examination demonstrated no apparent abnormalities such as malignant cells or hemophagocytosis. Alpha1-antitrypsin clearance test demonstrated no excretion of the protein in the stool. Computed tomography scans of her chest and abdomen demonstrated hepatosplenomegaly, pleural effusion and ascites (Figure 1). There was no pericardial effusion or cardiac dysfunction on echocardiography. Magnetic resonance sialography (MR-sialography) demonstrated ductal dilation and glandular destruction of her parotid gland equivalent to Rubin-Holt's Grade 3 (Figure 2). Histopathological test from her cheek showed perivascular dermatitis which is consistent with SLE or SS. She was diagnosed as having SS and possibly SLE. She was initially treated with prednisolone (PSL, 40 mg/kg/day for 2 days followed by 60 mg/kg/day for 8 days) and infusion of albumin to restore circulation volume and reduce systemic oedema. Lip biopsy was carried out after stabilisation of her general condition and showed mononuclear cell infiltration into the minor salivary gland which is classified as Greenspan's Grade 2. As her body weight increased to 69 kg on the 14th hospital day, methylprednisolone (mPSL) pulse therapy (1 g/day for 3 consecutive days) was commenced. Six courses of low dose intravenous cyclophosphamide (IVCY) therapy (500 mg/dose every two weeks) were also adopted

which were followed by oral administration of azathioprine (75 mg/day). Her platelet count, D-dimer and CRP levels returned to normal levels associated with defervescence and recovery of body weight to 64 kg within 2 weeks after the commencement of mPSL pulse therapy. Renal biopsy demonstrated endothelial enlargement and focal intratubular proliferation without immune complex deposition (Figure 3). Oral prednisolone therapy (50 mg/day) was started following three courses of mPSL pulse therapy and gradually decreased. She is currently treated with combination of azathioprine and 7.5 mg/day of prednisolone without relapse.

Discussion

Our patient showed globular destruction of the salivary gland on MR-sialography associated with positive ANA and anti-SS-A antibodies. MR-sialography findings correspond well with sialography findings in childhood SS [7], supporting the diagnosis of SS defined by Japanese Diagnostic Criteria for SS [8]. Although the grade of focal lymphoid infiltration in the minor salivary glands was not enough to confirm the diagnosis, focal infiltration of less than 50 mononuclear cells is suggestive of childhood SS [9,10]. SS and SLE share several similarities in both clinical and laboratory findings. A faint facial erythema in our patient was indistinguishable from each other on both clinical and histopathological examinations. Lymphocytopenia, thrombocytopenia and positive anti-nuclear antibody, all of which are included in the classification criteria by both American College of Rheumatology and Systemic Lupus International Collaborating Clinics [11,12], are also observed in primary SS. Although pleural effusion and ascites were detected on CT scan, she complained no chest or abdominal pain, suggesting effusion associated with generalised oedema rather than serositis. Histological

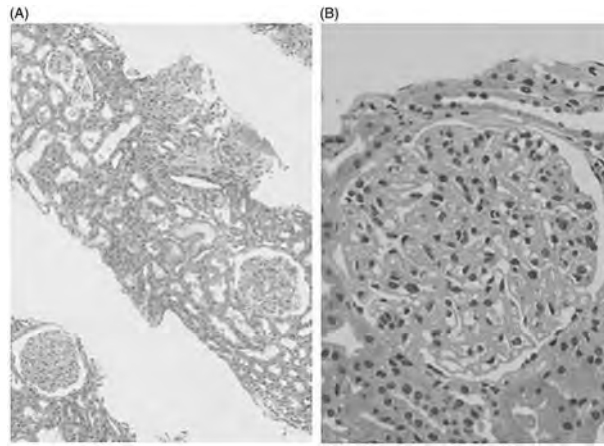


Figure 3. Renal pathology. Histological studies demonstrated endothelial enlargement and focal intratubular proliferation but no apparent interstitial nephritis (haematoxylin–eosin staining, A $\times 40$, B $\times 100$). No deposit of immunoglobulins or complements was observed by immunofluorescent staining (not shown).

showed endothelial enlargement and focal intratubular proliferation of the kidney which are consistent with lupus nephritis on HE staining but lacked immune complex deposition [13]. On the other hand, serum complement levels remained at a lower limit of normal ranges despite extremely high levels of other acute phase reactant, suggesting consumption of complements, a hallmark of SLE. Thus, the diagnosis of SLE is possible but not definitive in our patient.

Anasarca has been reported as a rare complication of juvenile dermatomyositis (JDM) and dermatomyositis [14,15]. However, she demonstrated no muscle weakness, JDM-specific erythema, abnormal signals on muscle MRI, or myositis-specific autoantibodies [16]. Nephrotic syndrome and protein-losing enteropathy are causes of hypoalbuminemia in both SLE and SS [1–4] but were absent in our patient. Systemic capillary leak syndrome (SCLS) is characterised by oedema, hypoalbuminemia and hemoconcentration without nephrosis or other causes of protein loss, and often results in hypovolemic shock [17,18]. SCLS develops alone or in association with malignancies, infectious diseases and medication [18]. Recent reports have demonstrated that SCLS is a rare complication of connective diseases such as SS, polymyositis, antiphospholipid syndrome and Kawasaki disease [19–22]. Interestingly, one report demonstrated that four of the five autoimmune-associated SCLS cases were diagnosed as SS [19], suggesting that patients with SS have a predisposition to SCLS. It is suggested that serum proteins with large molecular weights including albumin leak to interstitial spaces [17]. Although our case lacked several characteristics of SCLS, such as hemoconcentration or hypotension, inexplicable hypoalbuminemia suggests similar mechanism. Given that the severity of SCLS associated with connective tissue

diseases varies from self-limiting to fatal [19], our case could be mild and responded to immunosuppressive therapy before the development of irreversible tissue damage. Based on the pathological findings of the skin and renal biopsies and elevated levels of D-dimer, we hypothesise that systemic vasculitis/perivasculitis and endothelial damage increase the vascular permeability. Vasculitis complicates 11–36% of SLE and 10% of SS [23,24]. Vasculitis in SLE tends to associate with high disease activity and/or co-existing diseases causing vascular damage such as SS or anti-phospholipid antibody syndrome [24]. Prolonged systemic inflammation as suggested by fever and elevated levels of ESR, fibrinogen and CRP may be also involved in the decreased production of albumin. Together with thrombocytopenia and the elevated levels of AST and ferritin, these findings suggest hypercytokinaemia as observed in macrophage activating syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis or SLE [25,26]. This is consistent with a recent report demonstrating that elevated levels of cytokines, such as vascular endothelial growth factor, interleukin-1 β , interleukin-6 and tumour necrosis factor- α , are associated with increased vascular permeability in primary SCLS [27].

She was initially treated with prednisolone and albumin replacement to stabilise her haemodynamics. Although clinical effects of high-dose intravenous immunoglobulin therapy, $\beta 2$ -stimulants and theophylline have been reported in SCLS [18,20,22,28], we chose immunosuppressive therapy to control the possible underlying SS and SLE. Clinical effect of mPSL pulse therapy has also been reported in a case of SCLS (Clarkson's disease) [29]. Recurrence of capillary leak attack is another characteristic of SCLS but has not occurred for 2 years of follow-up on the concomitant administration of azathioprine with corticosteroid.

In conclusion, anasarca is a complication of SS and/or SLE even in the absence of nephrotic syndrome or protein-losing enteropathy. Systemic inflammation-associated hyperpermeability similar to SCLS could be a mechanism of oedema and require intensive immunosuppressive therapy.

Acknowledgements

The authors thank Prof. M. Kuwana (Department of Allergy and Rheumatology, Nippon Medical School) for testing myositis-specific autoantibodies.

Disclosure statement

The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this article.

References

- [1] Borgia RE, Silverman ED. Childhood-onset systemic lupus erythematosus: an update. *Curr Opin Rheumatol.* 2015;27:483–492
- [2] Aggarwal A, Srivastava P. Childhood onset systemic lupus erythematosus: how is it different from adult SLE? *Int J Rheum Dis.* 2015;18:182–191.
- [3] Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. Systemic lupus erythematosus. *Lancet.* 2014;384:1878–1888.
- [4] Rischmueller M, Tieu J, Lester S. Primary Sjögren's syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2016;30:189–220.
- [5] Kobayashi I, Furuta H, Tame A, et al. Complications of childhood Sjögren syndrome. *Eur J Pediatr.* 1996;155:890–894.
- [6] de Souza TR, Silva IH, Carvalho AT, et al. Juvenile Sjögren syndrome: distinctive age, unique findings. *Pediatr Dent.* 2012;34:427–430.
- [7] Tomiita M, Ueda T, Nagata H, et al. Usefulness of magnetic resonance sialography in patients with juvenile Sjögren's syndrome. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23:540–544.
- [8] Fujibayashi T, Sugai S, Miyasaka N, et al. Revised Japanese criteria for Sjögren's syndrome (1999): availability and validity. *Mod Rheumatol.* 2004;14:425–434.
- [9] Yokogawa N, Lieberman SM, Alawi F, et al. Comparison of labial minor salivary gland biopsies from childhood Sjögren syndrome and age-matched controls. *J Rheumatol.* 2014;41:1178–1182.
- [10] Yokogawa N, Lieberman SM, Sherry DD, et al. Features of childhood Sjögren's syndrome in comparison to adult Sjögren's syndrome: considerations in establishing child-specific diagnostic criteria. *Clin Exp Rheumatol.* 2016;34:343–351.
- [11] Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, et al. Derivation and validation of systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2677–2686.
- [12] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725.
- [13] Kidder D, Rutherford E, Kipgen D, et al. Kidney biopsy findings in primary Sjögren syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2015;30:1363–1369.
- [14] Ito Y, Kawabata D, Yukawa N, et al. Severe subcutaneous generalized edema in a patient with dermatomyositis. *Mod Rheumatol.* 2007;17:171–173.
- [15] Saygi S, Alehan F, Baskin E, et al. Juvenile dermatomyositis presenting with anasarca. *J Child Neurol.* 2008;23:1353–1356.
- [16] Rider LG, Nistala K. The juvenile idiopathic inflammatory myopathies: pathogenesis, clinical and auto-antibody phenotypes, and outcome. *J Intern Med.* 2016;280:24–38.
- [17] Clarkson B, Thompson D, Horwith M, et al. Cyclical edema and shock due to increased capillary permeability. *Am J Med.* 1960;29:193–216.
- [18] Druey KM, Greipp PR. Narrative review: the systemic capillary leak syndrome. *Ann Intern Med.* 2010;153:90–98.
- [19] Guffroy A, Dervieux B, Gravier S, et al. Systemic capillary leak syndrome and autoimmune diseases: a case series. *Semin Arthritis Rheum.* 2016. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2016.08.001
- [20] Dowden AM, Rullo OJ, Aziz N, et al. Idiopathic systemic capillary leak syndrome: novel therapy for acute attacks. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:1111–1113.
- [21] Natterer J, Perez MH, Di BS. Capillary leak leading to shock in Kawasaki disease without myocardial dysfunction. *Cardiol Young.* 2012;22:349–352.
- [22] Prete M, Urso L, Fatone MC, et al. Antiphospholipids syndrome complicated by a systemic capillary leak-like syndrome treated with steroids and intravenous immunoglobulins: a case report. *Medicine.* 2016;95:e2648.
- [23] Ramos-Casals M, Nardi N, Lagrutta M, et al. Vasculitis in systemic lupus erythematosus: prevalence and clinical characteristics in 670 patients. *Medicine (Baltimore).* 2016;95:95–104.
- [24] Barile-Fabris L, Hernandez-Cabrera MF, Barragan-Garfias JA. Vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep.* 2014;16:440.
- [25] Shimizu M, Nakagishi Y, Yachie A. Distinct subsets of patients with systemic juvenile idiopathic arthritis based on their cytokine profiles. *Cytokine.* 2013;61:345–348.
- [26] Shimizu M, Yokoyama T, Tokuhisa Y, et al. Distinct cytokine profile in juvenile systemic lupus erythematosus-associated macrophage activation syndrome. *Clin Immunol.* 2013;146:73–76.
- [27] Xie Z, Ghosh CC, Parikh SM, et al. Mechanistic classification of the systemic capillary leak syndrome: Clarkson disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;189:1145–1147.
- [28] Xie Z, Chan EC, Long LM, et al. High-dose immunoglobulin therapy for systemic capillary leak syndrome (Clarkson disease). *Am J Med.* 2015;128:91–95.
- [29] Sheehan JR, Keating L, Chan A, et al. Distributive shock due to systemic capillary leak syndrome treated with high-dose immunosuppression. *BMJ Case Rep.* 2013. DOI: 10.1136/bcr-2013-009048

Recurrence of juvenile dermatomyositis 8 years after remission



Ken Muramatsu, MD,^{a,b} Hideyuki Ujiie, MD, PhD,^a Mayumi Yokozeki, MD,^b
Ichiro Tsukinaga, MD,^b Mai Ito, MD,^c Takaaki Shikano, MD,^c Akira Suzuki, MD, PhD,^d
Yusuke Tozawa, MD,^c and Ichiro Kobayashi, MD, PhD^{c,e}
Sapporo, Japan

Key word: juvenile dermatomyositis.

INTRODUCTION

Juvenile dermatomyositis (JDM) is a chronic inflammatory disease characterized by typical skin lesions and muscle weakness, which occurs in children and adolescents younger than 16 years.¹ JDM is classified into 3 clinical types according to the posttreatment course: (1) monocyclic, in which there is one episode with permanent remission within 2 years after diagnosis; (2) polycyclic, with multiple relapses within 2 years; and (3) continuous, with pathologic states persisting for more than 2 years.² Early treatment with prednisolone is suggested to limit the disorder to the monocyclic course.³ Only 2 case reports in which monocyclic JDM recurred more than 3 years after remission have been described in the English-language literature.^{4,5} Of these 2 reported cases, 1 patient had no initial treatment and the other had oral prednisolone (PSL) alone.^{4,5} Recently a well-designed randomized, controlled trial found that aggressive therapeutic approaches, such as PSL plus methotrexate (MTX) after methylprednisolone (mPSL) pulse therapy, outperform PSL monotherapy after mPSL pulse therapy with respect to clinical remission, treatment failure, and discontinuation of PSL.⁶ Here we present a case of monocyclic JDM that recurred 8 years after remission despite initial treatment with PSL plus MTX after mPSL pulse therapy.

CASE REPORT

A 4-year-old Japanese boy presented with eruptions on the face, ears, elbows, and knees and with

Abbreviations used:

CDASI:	Cutaneous Dermatomyositis Area and Severity Index
JDM:	juvenile dermatomyositis
MTX:	methotrexate
mPSL:	methylprednisolone
PSL:	prednisolone

muscular weakness. Physical examination found erythema on the cheeks and ears, keratotic papules and purplish erythema on the dorsa of the hands, and scaly erythema on the knees (Fig 1, *A* and *B*). This patient had no symptoms of dysphonia. Cutaneous Dermatomyositis Area and Severity Index (CDASI) was 8. The histopathology of the left knee showed vacuolar changes in the epidermis, deposition of mucin, pigment incontinence, and infiltration of lymphocytes in the papillary dermis (Fig 2, *A*). Biochemical examination found elevated levels of creatine kinase 425 IU/L (normal range, 12–170 IU/L) and aldolase 19.0 IU/L (2.7–7.5 IU/L). Antinuclear antibody and anti-Jo-1 antibody were negative. Magnetic resonance imaging (T2) found diffuse high-intensity areas in the proximal muscles of the extremities, which suggests edema caused by inflammation (Fig 2, *B*). Based on the clinical, histopathologic, and radiologic findings, the diagnosis of JDM was made. According to the recommended regimen at that time,⁷ the patient was treated with 2 courses of mPSL pulse therapy (30 mg/kg/d for 3 consecutive days per course) followed by

From the Departments of Dermatology^a and Pediatrics,^e Hokkaido University Graduate School of Medicine and the Departments of Dermatology^b and Pathology^d and Center for Pediatric Allergy and Rheumatology,^c KKR Sapporo Medical Center.

Funding sources: None.

Conflicts of interest: None declared.

Correspondence to: Hideyuki Ujiie, MD, PhD, Assistant Professor, Department of Dermatology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, North 15 West 7, Kita-ku, Sapporo 060-838, Japan. E-mail: h-ujie@med.hokudai.ac.jp.

JAAD Case Reports 2017;3:29-32.
2352-5126

© 2016 by the American Academy of Dermatology, Inc. Published by Elsevier, Inc. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jidcr.2016.10.003>



Fig 1. Erythema on the cheeks and ears at initial onset (4 years old) (A) and at relapse (12 years old) (C). Keratotic papules and purplish erythema on the dorsal of the left hand at initial onset (B) and at relapse (D).

combination therapy with PSL (1 mg/kg/d) and MTX (0.4 mg/kg/wk), both of which were tapered out in 6 months. Both clinical and biochemical remission was achieved and persisted for 8 years, suggesting a monocyclic course.

At 12 years of age, the patient presented to us with similar symptoms affecting the skin and proximal muscles but without preceding infectious episodes within the previous 3 months (Fig 1, C and D). Elevated levels of aspartate aminotransferase, 104 IU/L (0–35 IU/L); alanine aminotransferase, 53 IU/L (0–35 IU/L); lactate dehydrogenase, 506 IU/L (80–200 IU/L); creatine kinase, 1930 IU/L (12–170 IU/L), and aldolase 28.6 IU/L (2.7–7.5 IU/L) were observed. Antinuclear, anti-Jo-1, anti-Sm, anti-SS-A, anti-SS-B and anti-RNP antibodies were all negative.

The IgM class of antiparvovirus B19 antibodies was not detected. Computed tomography scans showed neither interstitial pneumonia nor visceral malignancy. The clinical, histopathologic, and radiologic findings were virtually identical to those observed 8 years before (Fig 2, C and D). These findings confirmed the diagnosis of JDM relapse. Both the skin condition and muscle strength improved with 2 courses of mPSL pulse therapy (1 g/d for 3 consecutive days per course) followed by PSL (0.78 mg/kg/d) and MTX (0.20 mg/kg/wk). Serum levels of muscle-derived enzymes also returned to normal ranges. However, when the PSL dose was decreased to 0.29 mg/kg/d, elevation of muscle-derived enzymes and muscle weakness recurred, accompanied by pseudohypertrophy of the gastrocnemius

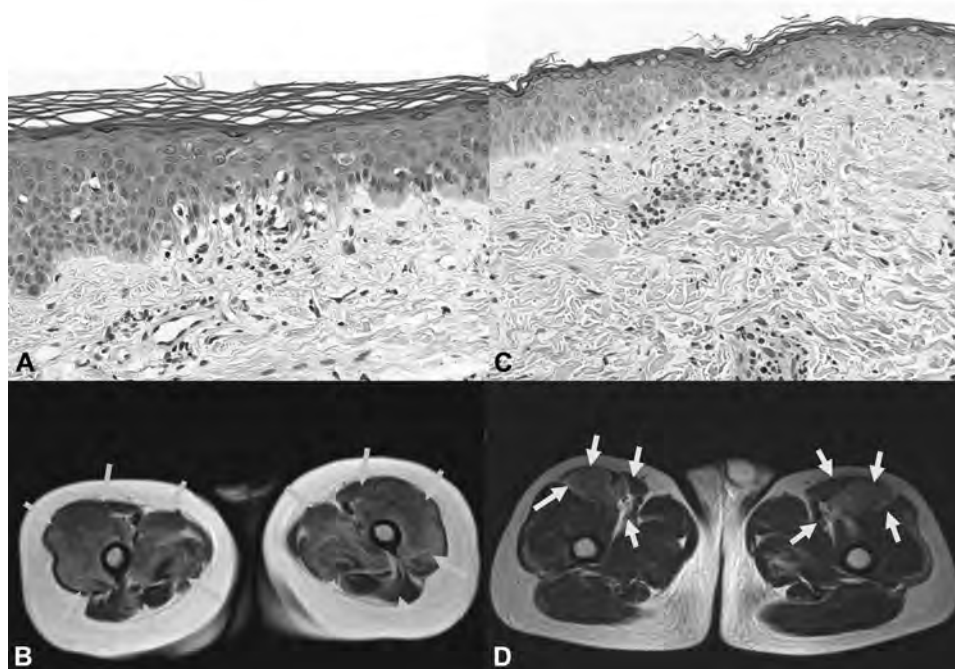


Fig 2. Vacuolar changes at the dermoepidermal junction of the epidermis, and deposition of mucin, pigment incontinence, and infiltration of lymphocytes in the papillary dermis are observed in the biopsy specimen of the left cheek at initial onset (4 years old) (**A**) and of the right knee at relapse (12 years old) (**C**). At the initial onset (T2) (**B**) (orange arrows) and at relapse (STIR) (**D**) (yellow arrows), magnetic resonance imaging shows high-intensity areas in the proximal muscles of the thighs, which suggests edema caused by inflammation. (**C**, Hematoxylin-eosin stain; original magnification: $\times 200$.)

muscles. Erythema on the cheeks and keratotic papules on the dorsal hands also reappeared. Although his muscle strength and serum levels of muscle-derived enzymes returned to normal levels after the addition of cyclosporine (0.20 mg/kg/d) and an increase of PSL dose (to 0.78 mg/kg/d), the pseudohypertrophy and the eruptions persisted. The change of cyclosporine to tacrolimus (0.04 mg/kg/d) and decrease of MTX (to 0.08 mg/kg/wk) maintained the normal levels of muscle-derived enzymes and muscle strength. There were no sequelae such as calcinosis, muscular contracture, or cutaneous or gastric ulcers during his course. This patient will continue monthly follow-up, with a gradual PSL dose reduction planned for a minimum of 2 years unless a relapse of JDM occurs.

DISCUSSION

There are no established methods for predicting the clinical course of JDM. JDM is usually treated with corticosteroid therapy alone or in combination with immunosuppressive agents such as MTX.⁸ It is suggested that early and intensive corticosteroid-based therapy leads to a monocyclic course.³ Although clinical remission was achieved by early

intensive treatment with mPSL pulse therapy followed by oral PSL and weekly MTX in the initial episode of JDM in our case, the maintenance therapy was discontinued at 6 months to prevent adverse events associated with long-term corticosteroid use. Because the treatment for JDM is usually continued for at least 2 years,^{6,8} the duration of the initial treatment seems short. However, premature cessation of treatment usually leads to early relapse of JDM. Thus, the short duration of treatment may not have been associated with the relapse 8 years after the initial onset in our patient. Although infections often trigger the onset or relapse of JDM,^{9,10} there were no infectious episodes in our patient within 3 months before the relapse of JDM. Recently, 2 possible factors, dysphonia and high CDASI¹¹ score (CDASI >20), have been associated with relapse in a population of dermatomyositis and JDM.¹² However, this patient did not have dysphonia, and CDASI was less than 20.

The prognosis of late recurrent JDM is not fully understood. Of the 2 previously reported cases, one had been successfully treated with PSL monotherapy until the relapse, whereas the other showed

spontaneous remission.^{4,5} Although the initial episode of JDM was completely cured by short-term corticosteroid-based treatment, additional intensive immunosuppressive therapy with tacrolimus was required to control the prolonged skin lesions in the relapse. Thus, the late recurrence of monocyclic JDM could be intractable and require attention.

REFERENCES

1. Huber AM, Robinson AB, Reed AM, et al. Consensus treatments for moderate juvenile dermatomyositis: Beyond the first two months. Results of the second Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance consensus conference. *Arthritis Care Res(Hoboken)*. 2012;64(4):546-553.
2. Spencer CH, Hanson V, Singsen BH, Bernstein BH, Kornreich HK, King KK. Course of treated juvenile dermatomyositis. *J Pediatr*. 1984;105(3):399-408.
3. Christen-Zaech S, Seshadri R, Sundberg J, Paller AS, Pachman LM. Persistent association of nailfold capillaroscopy changes and skin involvement over thirty-six months with duration of untreated disease in patients with juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheum*. 2008;58(2):571-576.
4. Martini A, Ravelli A. Unusual case of childhood dermatomyositis. *Ann Rheum Dis*. 1985;44(5):356-357.
5. Lovell HB, Lindsley CB. Late recurrence of childhood dermatomyositis. *J Rheumatol*. 1986;13(4):821-822.
6. Ruperto N, Pistorio A, Oliveira S, et al. Prednisone versus prednisone plus ciclosporin versus prednisone plus methotrexate in new-onset juvenile dermatomyositis: a randomised trial. *Lancet*. 2016;387(10019):671-678.
7. Ramanan AV, Campbell-Webster N, Ota S, et al. The effectiveness of treating juvenile dermatomyositis with methotrexate and aggressively tapered corticosteroids. *Arthritis Rheum*. 2005;52(11):3570-3578.
8. Feldman BM, Rider LG, Reed AM, Pachman LM. Juvenile dermatomyositis and other idiopathic inflammatory myopathies of childhood. *Lancet*. 2008;371(9631):2201-2212.
9. Pachman LM, Lipton R, Ramsey-Goldman R, et al. History of infection before the onset of juvenile dermatomyositis: results from the National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases Research Registry. *Arthritis Rheum*. 2005;53(2):166-172.
10. Pachman LM, Hayford JR, Hochberg MC, et al. New-onset juvenile dermatomyositis: comparisons with a healthy cohort and children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1997;40(8):1526-1533.
11. Yassae M, Fiorentino D, Okawa J, et al. Modification of the Cutaneous Dermatomyositis Disease Area and Severity Index, an outcome instrument. *Br J Dermatol*. 2010;162(3):669-673.
12. Vuong V, Duong TA, Aouizerate J, et al. Dermatomyositis: Factors predicting relapse. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2015;30:813-818.

LETTER

Tacrolimus in combination with methotrexate and corticosteroid for the treatment of child-onset anti-signal recognition particle antibody-positive necrotizing myopathy

I Kobayashi^{1,2}, Y Tozawa², M Ueki², S Takezaki², S Watanabe³, H Iwafuchi⁴, M Yamada², M Kuwana⁵, T Ariga²

¹Center for Pediatric Allergy and Rheumatology, KKR Medical Center, Sapporo, Japan

²Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan

³Department of Pediatric Neurology, Shizuoka Children's Hospital, Shizuoka, Japan

⁴Department of Pathology, Shizuoka Children's Hospital, Shizuoka, Japan

⁵Department of Allergy and Rheumatology, Nippon Medical School Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan

Anti-signal recognition particle (SRP) antibody-associated immune-mediated necrotizing myopathy (SRP-IMNM) is a rare but the most severe form of both adult and juvenile inflammatory myopathies and often refractory to various therapies (1, 2). We report a boy with SRP-IMNM who was successfully treated with tacrolimus in combination with corticosteroid and weekly methotrexate (MTX).

An 8-year-old Japanese boy was admitted to Shizuoka Children's Hospital because of muscle weakness, muscle pain, and gait disorder which had slowly progressed since he was 6 years old and was suddenly exaggerated after an influenza infection. Initial examination demonstrated generalized muscle atrophy and weakness graded 3 on manual muscle testing (MMT). Gower's sign and symmetrical winged scapula were evident, although his facial muscles, respiration, and swallowing were spared. Laboratory examination demonstrated a white blood cell count of $7 \times 10^9/L$ with normal differentiation, haemoglobin 119 g/L, platelet count $402 \times 10^9/L$, C-reactive protein $< 10 \text{ mg/L}$, aspartate aminotransferase 149 IU/L, alanine aminotransferase 131 IU/L, lactate dehydrogenase 924 IU/L, creatine phosphokinase (CK) 5896 IU/L, and aldolase 63.9 IU/L. Serum levels of immunoglobulin and complements were within normal levels. Immunological studies demonstrated positive anti-nuclear antibodies at 1:160, but tests were negative for anti-Jo-1 and anti-ribonucleoprotein antibodies. T2-weighted magnetic resonance imaging (MRI) demonstrated high-intensity signals in his proximal muscles. Muscle biopsy demonstrated necrosis and regeneration of the muscle fibres with patchy dense infiltration of inflammatory cells (Figure 1). There were no skin, pulmonary, or cardiac lesions. Although limb-girdle muscular dystrophy was initially suspected, progression of muscle weakness and atrophy in association with fever suggested inflammatory myopathy. Two courses of methylprednisolone pulse therapy led to partial

improvement of his muscle power and declines in his serum levels of CK (278 IU/L) and aldolase (7.0 IU/L). Prednisolone (PSL) was started at a dose of 40 mg (2 mg/kg) and gradually decreased. When he was referred to Hokkaido University Hospital, he could not raise his head and legs from the prone position, although the muscle power of his both proximal and distal extremities had recovered to grade 4–5 on MMT. As the dose of PSL was gradually decreased to 7.5 mg, serum levels of CK and aldolase elevated to 800 IU/L and 15.5 IU/L, respectively, which required an increase in the dose of PSL. Weekly methotrexate (MTX) 8 mg/week showed no apparent steroid-sparing effect. At the age of 11 years, the disease flared, with elevated CK levels and MRI abnormalities. High-dose intravenous immunoglobulin therapy was not tolerated because of aseptic meningitis soon after the therapy. Following the commencement of tacrolimus (2 mg/day), the muscle power of his body trunk gradually recovered. Currently, he has no weakness on PSL 6 mg/day in combination with tacrolimus and weekly MTX. Anti-SRP antibodies were detected by an RNA-immunoprecipitation assay in the serum obtained at referral to Hokkaido University Hospital. Other myositis-specific or -associated autoantibodies such as anti-aminoacyl tRNA synthetase, anti-CADM-140, anti-MJ, and anti-155/140 antibodies were all negative.

SRP-IMNM accounts for up to 4% of adult idiopathic inflammatory myopathies and only 1–2% of juvenile idiopathic inflammatory myopathies (1, 2). SRP-IMNM consists of two types: chronic and acute/subacute (3). Our case showed insidious onset, and accordingly, was the chronic type. In addition to extremely elevated serum CK levels, necrosis and regeneration of the muscle fibre with no or little cellular infiltration in SRP-IMNM often lead to a misdiagnosis of muscular dystrophy (2). Similarly to our patient, acute exacerbation of SRP-IMNM immediately after an influenza-like illness has been reported in juvenile cases (4).

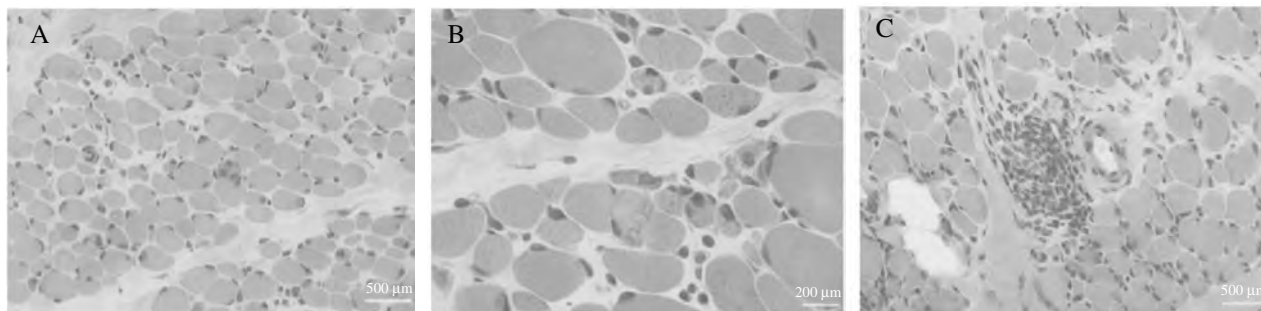


Figure 1. Histological findings of the muscle biopsy (hematoxylin–eosin staining). (A) Regenerated muscle fibres are found in the background of mildly atrophic muscle. (B) The muscle fibres with regeneration and necrosis are occasionally clustered intermingled with small lymphocytes. (C) Patchily distributed dense infiltration of inflammatory cells is seen.

To date, eight paediatric patients with mostly acute/sub-acute SRP-IMNM have been reported (4–6). Cytotoxic agents in combination with infliximab have failed to suppress the disease progression (4). One case report demonstrated a good response to plasma exchange in combination with steroid pulse and intravenous cyclophosphamide therapies (6). In adult cases, a clinical effect of rituximab has been reported, which supports an antibody-mediated complement-dependent mechanism suggested by *in vitro* studies in SRP-IMNM (7, 8). On the other hand, the involvement of T-helper (Th1) cells expressing interferon- γ , a potential inducer of major histocompatibility complex (MHC) class I molecules, has been reported (9). Indeed, muscle fibres of IMNM patients aberrantly express MHC class I molecules, which may cause muscle damage associated with endoplasmic reticulum stress and unfolded protein responses (2, 10). The clinical effect of tacrolimus in our patient and previously reported adult patients with a chronic course (2) supports a pathological role of T cells, at least in a subset of SRP-IMNM.

References

- Rider LG, Nistala K. The juvenile idiopathic inflammatory myopathies: pathogenesis, clinical and autoantibody phenotypes, and outcomes. *J Intern Med* 2016;280:24–38.
- Basharat P, Christopher-Stine L. Immune-mediated necrotizing myopathy: update on diagnosis and management. *Curr Rheumatol Rep* 2015;17:72.
- Suzuki S, Hayashi YK, Kuwana M, Tsuburaya R, Suzuki N, Nishino I. Myopathy associated with antibodies to signal recognition particle: disease progression and neurological outcome. *Arch Neurol* 2012;69:728–32.
- Rouster-Stevens KA, Pachman LM. Autoantibody to signal recognition particle in African American girls with juvenile polymyositis. *J Rheumatol* 2008;35:927–9.
- Suzuki S, Ohta M, Shimizu Y, Hayashi YK, Nishino I. Anti-signal recognition particle myopathy in the first decade of life. *Pediatr Neurol* 2011;45:114–16.
- Kawabata T, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, et al. A pediatric patient with myopathy associated with antibodies to a signal recognition particle. *Brain Dev* 2012;34:877–80.
- Valiyil R, Casciola-Rosen L, Hong G, Mamme A, Christopher-Stine L. Rituximab therapy for myopathy associated with anti-signal recognition particle antibodies: a case series. *Arthritis Care Res* 2010;62:1328–34.
- Rojana-udomsart A, Mitrpant C, Bundell C, Price L, Luo YB, Fabian V, et al. Complement-mediated muscle cell lysis: a possible mechanism of myonecrosis in anti-SRP associated necrotizing myopathy (ASANM). *J Neuroimmunol* 2013;264:65–70.
- Preuß C, Goebel HH, Held J, Wengert O, Scheibe F, Irlbacher K, et al. Immune-mediated necrotizing myopathy is characterized by a specific Th1-M1 polarized immune profile. *Am J Pathol* 2012;181:2161–71.
- Miller T, Al-Lozi MT, Lopate G, Pestronk A. Myopathy with antibodies to the signal recognition particle: clinical and pathological features. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73:420–8.

Ichiro Kobayashi, Center for Pediatric Allergy and Rheumatology, KKR Medical Center, 3-40, Hiragishi 1-6, Toyohira-ku, 062-0931 Sapporo, Japan.
E-mail: ichikoba@kkrc-smc.com

Accepted 22 September 2016

Original article

Clinical and laboratory features of fatal rapidly progressive interstitial lung disease associated with juvenile dermatomyositis

Norimoto Kobayashi^{1,*}, Shunichiro Takezaki^{2,*}, Ichiro Kobayashi^{2,*}, Naomi Iwata³, Masaaki Mori⁴, Kazushige Nagai⁵, Naoko Nakano⁶, Mari Miyoshi⁷, Noriko Kinjo⁸, Takuji Murata⁹, Kenji Masunaga¹⁰, Hiroaki Umebayashi¹¹, Tomoyuki Imagawa¹², Kazunaga Agematsu¹³, Shinji Sato¹⁴, Masataka Kuwana¹⁵, Masafumi Yamada², Shuji Takei¹⁶, Shumpei Yokota⁴, Kenichi Koike¹ and Tadashi Ariga²

Abstract

Objective. Rapidly progressive interstitial lung disease (RP-ILD) is a rare but potentially fatal complication of JDM. The aim of this study was to establish markers for the prediction and early diagnosis of RP-ILD associated with JDM.

Methods. The clinical records of 54 patients with JDM were retrospectively reviewed: 10 had RP-ILD (7 died, 3 survived), 19 had chronic ILD and 24 were without ILD. Routine tests included a high-resolution CT (HRCT) scan of the chest and measurement of serum levels of creatine phosphokinase, ferritin and Krebs von den Lungen-6 (KL-6). Anti-melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) antibodies and IL-18 levels were measured by ELISA.

Results. No differences were found in the ratio of juvenile clinically amyopathic DM between the three groups. Initial chest HRCT scan findings were variable and could not distinguish between RP-ILD and chronic ILD. Anti-MDA5 antibodies were positive in all 8 patients with RP-ILD and 10 of 14 with chronic ILD, but none of the patients without ILD. Serum levels of anti-MDA5 antibody, ferritin, KL-6 and IL-18 were significantly higher in the RP-ILD group than in the chronic ILD and non-ILD groups. Serum levels of IL-18 positively correlated with serum KL-6 ($R=0.66$, $P<0.001$).

Conclusion. High serum levels of IL-18, KL-6, ferritin and anti-MDA5 antibodies (e.g. >200 units by ELISA) are associated with RP-ILD. These can be used as an indication for early intensive treatment. Both alveolar macrophages and autoimmunity to MDA5 are possibly involved in the development of RP-ILD associated with JDM.

Key words: juvenile dermatomyositis, interstitial lung disease, interleukin-18, anti-melanoma differentiation-associated gene 5, KL-6, ferritin.

¹Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, ²Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, ³Department of Immunology and Infectious Diseases, Aichi Children's Health and Medical Center, Ohbu, ⁴Department of Pediatrics, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, ⁵Department of Pediatrics, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo, ⁶Department of Pediatrics, Ehime University Graduate School of Medicine, Matsuyama, ⁷Department of Allergy & Immunology, Hyogo Prefectural Kobe Children's Hospital, Kobe, ⁸Department of Pediatrics, University of the Ryukyus, Naha, ⁹Department of Pediatrics, Osaka Medical College, Takatsuki, ¹⁰Department of Pediatrics, Kurume University School of Medicine, Kurume, ¹¹Department of General Pediatrics, Miyagi Children's Hospital, Sendai, ¹²Division of Infection, Immunology and Rheumatology, Kanagawa Children's Medical Center, Yokohama,

¹³Department of Infection and Host Defense, Shinshu University Graduate School of Medicine, Matsumoto, ¹⁴Department of Rheumatology, Tokai University School of Medicine, Isehara, ¹⁵Department of Rheumatology, Keio University School of Medicine, Tokyo and ¹⁶School of Health Science, Faculty of Medicine, Kagoshima University, Kagoshima, Japan

Submitted 5 December 2013; revised version accepted 4 August 2014

Correspondence to: Ichiro Kobayashi, Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, North-15 West-7, Kita-ku, Sapporo 060-8638, Japan.
E-mail: ichikobaya@med.hokudai.ac.jp

*Norimoto Kobayashi, Shunichiro Takezaki and Ichiro Kobayashi contributed equally to this work.

Introduction

JDM is a rare inflammatory disease characterized by typical skin rashes and muscle weakness. It affects 2-3/ million children/yr, however, the frequency differs between ethnic groups [1-3]. Prior to the 1960s, more than one-third of patients died of the disease [4]. Advances in treatment with corticosteroids and immunosuppressants have reduced the mortality rate of JDM to 1-5% [5, 6]. Interstitial lung disease (ILD) is observed in up to 50% of adult DM cases and is a major cause of death when rapidly progressive ILD (RP-ILD) develops in association with clinically amyopathic DM (CADM) [7]. Nevertheless, radiologically confirmed ILD complicates only 2-14% of JDM cases [8, 9]. In a recent Japanese nationwide physician questionnaire-based survey of severe paediatric rheumatic diseases from 2005 to 2009, 13 deaths in patients with JDM were reported; there were >3 deaths in patients with SLE during the same period [10]. Complete clinical records and sera were available in 6 of the 13 JDM patients who died. Surprisingly, all six deaths were attributed to ILD. The Japanese survey demonstrates that RP-ILD is a major cause of death related to JDM in Japan. This prompted this study to establish markers for the prediction and early diagnosis of RP-ILD associated with JDM.

We have reported that the serum Krebs von den Lungen-6 (KL-6) level is a useful marker of ILD associated with JDM [11]. Furthermore, similar to adult cases, anti-CADM-140/melanoma differentiation-associated gene 5 (MDA5) autoantibodies are possible diagnostic markers of JDM-associated ILD [12-14]. Recent studies on adult DM-associated ILD have demonstrated elevated serum levels of both ferritin and IL-18, which is produced by macrophages and dendritic cells (DCs) and activates Th1 response [15-18]. However, cytokine profiles have not been reported in JDM-associated ILD, possibly because of the rarity of the complication. In the present Japanese nationwide collaborative study, we focused on the clinical, radiological and laboratory features of patients with JDM-associated RP-ILD and compared them with those of JDM patients without RP-ILD.

Patients and methods

Definition

Classic JDM was diagnosed according to Bohan and Peter [1]. As this was a retrospective study, muscle weakness was determined by the assessing physician and was not based on validated muscle assessment such as manual muscle test. Juvenile CADM (JCADM) was diagnosed according to modified Gerami *et al.* [19] criteria: hypomyopathic DM was defined as patients with classical cutaneous manifestations of DM and no proximal muscle weakness but with evidence of myositis on laboratory, electrophysiological and/or radiological testing; amyopathic DM patients had no clinical or laboratory evidence of myositis. Gerami *et al.* [19] originally defined JCADM as patients fulfilling the above conditions for ≥ 6 months after onset without systemic treatment. However, in the present

study we classified all patients without weakness at the commencement of treatment as having CADM, because most of the patients with ILD require early treatment with systemic corticosteroids and immunosuppressants, usually within 6 months after the onset of JDM. The diagnosis of ILD was made by using high-resolution CT (HRCT) scan of the chest and was confirmed by both a radiologist and a paediatric rheumatologist at each institute. RP-ILD was defined as the progression of dyspnoea or HRCT findings within 3 months after the onset of respiratory symptoms or at the time of diagnosis of JDM.

Patients

In the nationwide survey of severe paediatric rheumatic diseases, paediatricians in inpatient health care facilities in Japan were asked about the number of patients with rheumatic disease who had visited the clinic in 2009 and the number of deaths between 2005 and 2009. All the patients were Japanese. Nine institutes reported 13 deaths of children with classic JDM or JCADM. Furthermore, respondents were asked to answer questions about data based on the patients' medical charts. Among the 13 deaths in children with JDM, complete clinical records and sera were available in six patients and were retrospectively analysed. One patient died of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia and was excluded. The other five patients died from RP-ILD [10, 21-24]. The number of cases of RP-ILD was increased by including two patients who died of JDM-associated RP-ILD before 2004 and by including three surviving cases with RP-ILD available from the authors' institutes [14, 25]. As a result, 10 patients (7 deceased and 3 survivors) were included in this category. Twenty patients with ILD associated with JDM (followed up by the authors) did not show a rapidly progressive course. One patient was excluded, leaving 19 patients in this chronic ILD group. The excluded patient had chronic ILD and severe myositis complicated by macrophage activation syndrome (MAS); the associated macrophage activation was presumed to be the cause of markedly elevated levels of IL-18 [20]. The clinical features of seven patients with ILD have been previously reported [14, 20-25]. Twenty-four patients with JDM without ILD on chest CT scan from Shinshu University Hospital, Aichi Children's Health and Medical Center and Hokkaido University Hospital were included in the non-ILD group.

Biochemical and serological analyses

Sera were collected from the patients at diagnosis of ILD or, in the case of patients without ILD, at diagnosis of JDM and stored at -20°C until use. Routine laboratory tests included measurement of serum levels of creatine phosphokinase (CK), ferritin and a marker for ILD, KL-6. Anti-MDA5 antibody levels were measured by both ELISA and immunoprecipitation as previously described [13]. Serum IL-18 levels were measured by ELISA according to the manufacturer's protocol (MBL, Nagoya, Japan).

Statistical analyses

The data were analysed by Tukey-Kramer's multiple comparison tests, Fisher's exact tests with Bonferroni adjustment and Pearson's product-moment correlation coefficient using JMP 10.0 for Windows (SAS Institute, Cary, NC, USA)

Ethics

The ethics committee of Shinshu University approved the present study. Written consent was obtained from the parents of the patients according to the Declaration of Helsinki.

Results

Clinical and radiological features of JDM-associated RP-ILD

The clinical and laboratory findings of 10 children with RP-ILD are shown in Table 1. Eight patients showed apparent muscle weakness, although the other two patients were classified as having JCADM. Nine of the 10 patients had characteristic skin findings and high fever (temperature >38°C). Gottron's papules were the most common skin lesion, followed by malar erythema and erythema of the knees and elbows. In contrast, heliotrope rash and ulcerative lesions were rarely observed. Respiratory symptoms such as dry cough, dyspnoea and fine crackles were observed in five, four and six patients, respectively, at diagnosis of ILD. The remaining patients had no respiratory symptoms or signs of ILD at diagnosis. Seven of the 10 patients with RP-ILD died of respiratory failure 1–4 months after the diagnosis of ILD.

HRCT findings of RP-ILD

Lung HRCT scan findings at the time of diagnosis of ILD are summarized in Table 1. Subpleural curvilinear shadow was the most predominant finding. Although localized ground glass opacity (GGO) was observed in six patients, GGOs developed during the disease course in all patients who died of ILD. Three patients (patients 3, 4 and 6) had consolidation around bronchovascular bundles (CABBs) accompanying extensive GGOs. Four patients (patients 1, 4, 6 and 7) developed an air leak such as pneumomediastinum and pneumothorax during the course of the disease. Although patient 1 had only bilateral pleural effusion on the initial HRCT, both elevated serum KL-6 levels and increased gallium-67 uptake on scintigraphy of the lungs were noted. One month later, chest HRCT demonstrated marked consolidation at the base of both lungs [22]. In all cases of death, the final diagnosis leading to death was acute interstitial pneumonia with acute and progressive respiratory failure accompanied by GGOs on HRCT. The clinical diagnosis was consistent with diffuse alveolar damage (DAD) patterns on autopsy or biopsy.

Comparison of the clinical features of the chronic ILD and non-ILD groups

The clinical features of the three groups are summarized in Table 2. The age of onset was significantly higher in the

chronic ILD group than in the non-ILD group. No differences were found in the ratio of JCADM among the three groups. Seven of the 10 patients with RP-ILD died despite intensive treatment with methylprednisolone pulse therapy in combination with CSA and/or i.v. CYC, whereas none of the patients in the chronic ILD and non-ILD groups died.

Comparison of the laboratory features of the chronic ILD and non-ILD groups

The laboratory findings of the three groups are summarized in Table 2. Although serum CK levels were significantly higher in the non-ILD group than in the chronic ILD group, there was no significant difference between the RP-ILD and non-ILD groups. Serum KL-6 levels were significantly higher in the RP-ILD group than in either the chronic ILD or the non-ILD group. Serum ferritin levels in both the RP-ILD and chronic ILD groups were higher than those in the non-ILD group.

All 8 patients with RP-ILD and 10 of 14 patients with chronic ILD were positive for anti-MDA5 antibodies, but none of the 22 patients without ILD were positive for the antibodies. Titres of anti-MDA5 antibodies were significantly higher in the RP-ILD group than in either the chronic ILD or the non-ILD group (Table 2 and Fig. 1).

Serum IL-18 levels were significantly higher in the RP-ILD group than in the chronic ILD or non-ILD group (Table 2 and Fig. 2). Serum IL-18 levels correlated well with serum KL-6 levels ($R=0.66$) but not with ferritin levels (Fig. 3 and data not shown). A patient with severe myositis, MAS and chronic ILD, who was excluded from statistical analyses, showed high serum levels of IL-18 (3265 pg/ml), ferritin (2235 ng/ml) and KL-6 (2096 U/ml), but only mild elevation of anti-MDA5 antibody levels (9.5 units) [20].

Sera were serially tested in two patients with RP-ILD who survived and two patients with chronic ILD who were positive for anti-MDA5 antibody. Serum levels of anti-MDA5 antibodies and IL-18 returned to below the cut-off values or to undetectable levels at remission of ILD (data not shown).

Discussion

Although previous studies have reported multiple organ involvement such as muscle weakness, aspiration pneumonia, myocarditis, peptic ulcer and sepsis as causes of death in JDM, the prognosis has improved through recent advances in the management of the disease [5, 26]. The Japanese nationwide survey demonstrated RP-ILD as a remaining major cause of death in JDM. The UK and Ireland national registry from 2000 to 2005 indicated only one death in patients with JDM [27]. A recent study in the USA that enrolled 329 patients with JDM recorded only eight deaths from 1999 to 2011, three of which were due to ILD [28]. Given the higher prevalence of adult CADM-associated RP-ILD in Asian countries, Japanese children with JDM may also be predisposed to RP-ILD compared with other ethnicities [7, 29]. In our previous nationwide survey we analysed the number of patients

TABLE 1 Clinical course of 10 children with JDM or JCADM-associated rapidly progressive ILD

Sex	Male		Female		Male		Female		Male		Female	
	JDM	JCADM	JDM	JCADM	JDM	JCADM	JDM	JCADM	JDM	JCADM	JDM	JCADM
Diagnosis	9	4	4	4	10	6	4	4	7	1	13	7
Age of JDM onset, years	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fever (>38°C)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gotttron's sign	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Malar rashes	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Heliotope rashes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Skin ulceration	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dry cough or dyspnoea at diagnosis of ILD	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Interval between onset of JDM and diagnosis of ILD, months	5	3	1	1	1	5	6	6	2	5	1	1
Initial CT scan	PE	SCS	CABB, GGO, TB, SCS	CABB, GGO, SCS	CABB, GGO, TB, SCS	SCS	CABB, GGO, TB, SCS	CABB, GGO, SCS	GGO	CABB, SCS	GGO, SCS	GGO, SCS
Outcome	Died	Died	Died	Died	Died	Died	Died	Died	Died	Alive	Alive	Alive
Autopsy	DAD	DAD	DAD	DAD	DAD ^a	DAD	ND	ND	DAD	DAD	DAD	DAD
Interval between diagnosis of ILD and death, months	4	4	1	1	3	2	1	1	2	2	2	2
Interval between onset of respiratory symptoms and death, months	4	2	1	1	7 weeks	6.5	5	5	2	2	2	2
Reference	[22]	[22]	[23]	[23]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]	[20]

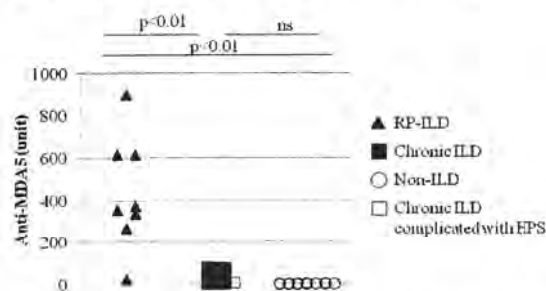
^aSurgical lung biopsy. CABB: consolidation around bronchovascular bundles; DAD: diffuse alveolar damage; GGO: ground-glass opacity; JCADM: juvenile clinically amyopathic dermatomyositis; ND: not done; PE: pleural effusion; RP-ILD: rapidly progressive interstitial lung disease; SCS: subpleural curvilinear shadow; TB: traction bronchiectasis.

TABLE 2 Comparison of clinical and laboratory features

	P-value			Statistical analysis
	RP-ILD (n = 10)	Chronic-ILD (n = 19)	Non-ILD (n = 24)	
Age, mean (s.d.), years	6.3 (3.5)	9.0 (3.6)	6.0 (3.3)	0.119
Sex, male/female	4/6	7/12	11/13	0.466
JCADM, n	2	2	3	0.367
Mortality, % (n dead/ n alive)	70.0 (7/3)	0.0 (0/19)	0.0 (0/24)	<0.001
CK, mean (s.d.), IU/l	403.1 (604.2)	473.7 (1304.8)	1790.3 (3202.1)	0.012
KL-6, mean (s.d.), U/ml	2045.6 (881.5)	718.3 (699.0)	283.1 (113.3)	<0.001
Anti-MDA5, mean (s.d.), units	387.9 (288.9) (n = 8)	33.3 (30.1) (n = 14)	2.4 (1.7) (n = 22)	<0.001
Anti-MDA5 positive cases (cut-off value 8.0 units), %	100 (n = 8)	71.4 (n = 14)	0.0 (n = 22)	<0.001
IL-18, mean (s.d.), pg/ml	1447.0 (941.4) (n = 8)	470.0 (341.6) (n = 19)	570.1 (474.0) (n = 24)	<0.001
Ferritin, mean (s.d.), ng/ml	355.4 (136.8) (n = 8)	222.8 (129.3) (n = 19)	131.2 (160.4) (n = 24)	<0.001

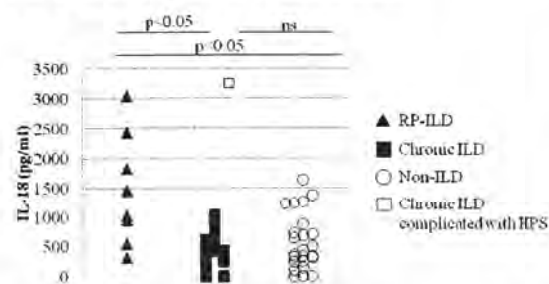
^aTo identify the difference among three groups, Fisher's exact test with Bonferroni adjustment was performed. $P < 0.016$ was considered significant. ^bTukey-Kramer test after log transformation. a: RP-ILD vs chronic-ILD; b: chronic-ILD vs non-ILD; c: RP-ILD vs non-ILD; CK: creatine phosphokinase; ILD: interstitial lung disease; JCADM: juvenile clinically amyopathic DM; KL-6: Krebs von Lungen-6; MDAs: differentiation-associated gene 5; ns: not significant; RP-ILD: rapidly progressive ILD.

Fig. 1 Chart of serum anti-MDA5 concentration



Serum anti-MDA5 antibody titres were significantly higher in RP-ILD than in chronic ILD or non-ILD with $P < 0.05$ (Tukey–Kramer test). One patient with chronic ILD (open square) is excluded from the statistical analysis. ns: not significant; ILD: interstitial lung disease; RP-ILD: rapidly progressive interstitial lung disease; HPS: haemophagocytic syndrome.

Fig. 2 Chart of serum IL-18 concentration

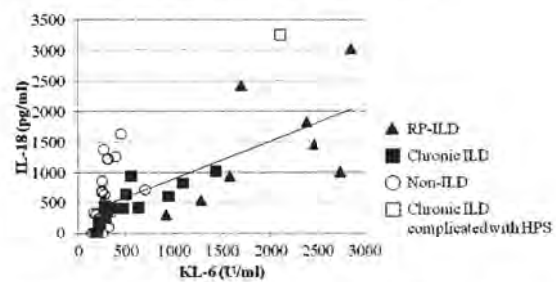


Serum IL-18 levels were significantly higher in RP-ILD than in chronic ILD or non-ILD with $P < 0.05$ (Tukey–Kramer test). One patient with chronic ILD (open square) is excluded from the statistical analysis. ns: not significant; ILD: interstitial lung disease; RP-ILD: rapidly progressive interstitial lung disease; HPS: haemophagocytic syndrome.

with rheumatic diseases who visited hospitals in 2009 and the number and causes of deaths between 2005 and 2009. Furthermore, we included five additional patients with RP-ILD who had presented to our hospital before the study period. A cohort study that captured all JDM cases nationwide is needed to determine the actual prevalence of ILD and the mortality rate of Japanese patients with JDM.

In the present study we could not identify any characteristic clinical features specific to JDM associated with RP-ILD. HRCT showed diffuse GGOs in all the deceased patients, which was consistent with a DAD pattern on autopsy. However, initial HRCT findings were variable and indistinguishable from those of survivors with RP-ILD or chronic ILD. Final radiological and pathological findings may represent merely the end stage of the disease,

Fig. 3 Correlation between KL-6 and IL-18



The closed triangle, closed square and open circle plots show RP-ILD, chronic ILD and non-ILD groups respectively. The coefficient of determination for total data was 0.66 ($P < 0.001$) indicating strong correlation between KL6 and IL18 (Pearson product-moment correlation coefficient). One patient with chronic ILD (open square) is excluded from the statistical analysis. ILD: interstitial lung disease; RP-ILD: rapidly progressive interstitial lung disease; HPS: haemophagocytic syndrome.

regardless of the original clinicopathological entities of ILD. Two of the four patients with pneumomediastinum and pneumothorax (patients 6 and 7, respectively) showed ulcerative lesions of their skin. Vasculopathy associated with JDM could have caused ulceration of both skin and airway walls, as suggested in adult cases [30].

We have reported that anti-MDA5 antibody is a useful disease marker of JDM-associated ILD [14]. The present study also demonstrated that higher levels of the antibody (e.g. >200 units by ELISA) were found in all but one of the RP-ILD group (patient 1), whereas the chronic ILD group had lower titres (<100 units). In addition, the titre of anti-MDA5 antibody declined to below the cut-off value (data not shown). Thus the antibody may help to differentiate RP-ILD from chronic ILD and may help in monitoring the response to treatment in JDM-associated RP-ILD. A similar correlation of the antibody titre with the activity of ILD has recently been reported in adult DM [31]. The antibody was originally reported as a disease marker of CADM-associated RP-ILD but is also detected in some adult cases of DM with chronic ILD on the basis of sensitive immunoblot analyses [12, 13, 32]. Given that anti-MDA5 antibodies were detected regardless of the severity of muscular lesions in our series, the antibodies are possibly related to ILD itself rather than JCADM. On the other hand, anti-MDA5 antibodies are associated with symmetrical arthritis, myositis and ILD, but not with CADM-associated RP-ILD in the USA [33]. Thus the clinical significance of the antibodies may differ between ethnic groups.

In addition to anti-MDA5 antibody, serum levels of ferritin, KL-6 and IL-18 were associated with RP-ILD, although the highest serum level of IL-18 was detected in a patient with severe myositis complicated by MAS and

chronic ILD. IL-18 is produced by both macrophages and DCs in the muscle tissues of patients with DM; IL-18 attracts plasmacytoid DCs that produce type 1 IFNs and correlates with disease activity in adult DM/PM patients without ILD [16, 17]. Extremely high levels of ferritin and IL-18 are reported in systemic JIA-associated MAS [34]. In addition, the association of elevated serum IL-18 levels with RP-ILD, as demonstrated in the present study, has also been reported in adult DM-associated ILD [35–37]. Activated alveolar macrophages are consistently found in bronchoalveolar lavage fluid from patients with DM-associated ILD [15]. Together, macrophages or DCs in the muscle, bone marrow and lungs are likely to play critical roles in myositis, MAS and JDM-associated ILD, respectively. Thus high levels of IL-18 or ferritin may not necessarily reflect the presence of RP-ILD in patients with severe myositis or MAS.

Studies of bronchoalveolar lavage fluid have also demonstrated restricted V β gene usage of T cell receptors and the presence of CD8⁺HLA-DR⁺ T cells in DM-associated ILD [38, 39]. Because IL-18 stimulates Th1 cells [18], T cells activated by alveolar macrophage-derived IL-18 could contribute to tissue destruction of the lung in an antigen-specific manner. Furthermore, since autoantigens identified by reactivity with autoantibodies also stimulate self-reactive T cells [40], MDA5 could be a target antigen of the T cells in DM/JDM-associated RP-ILD.

Of note, there was strong correlation between serum levels of IL-18 and KL-6. KL-6 is produced by type II pneumonocytes and bronchiolar epithelial cells, particularly during their regeneration. Furthermore, KL-6 functions as a chemoattractant for fibroblasts and is generally considered a biomarker of ILD that reflects the severity of the disease [41–43]. Given that the correlation between KL-6 and IL-18 is not initially observed in adult DM-associated ILD [44], remodelling of the lung may occur at an earlier phase of RP-ILD in JDM rather than in adulthood.

All three survivors with RP-ILD were found to have ILD on the basis of elevated KL-6 levels and HRCT findings and were treated with methylprednisolone pulse therapy in combination with CSA and/or monthly i.v. CYC before the development of respiratory symptoms. Thus screening for ILD using chest HRCT scan and routine monitoring of KL-6 levels is recommended for all patients with JDM regardless of respiratory symptoms. We have reported the efficacy of CSA in combination with methylprednisolone pulse therapy for JDM-associated ILD [21]. Early combination therapy with corticosteroid, CSA and i.v. CYC may further reduce the mortality of RP-ILD as reported in adult cases [45].

In conclusion, our results suggest the involvement of both autoimmunity and alveolar macrophages in the development of RP-ILD. Initial CT findings are often indistinguishable between RP-ILD and chronic ILD associated with JDM, however, early development of diffuse GGOs may predict poor outcome. Elevated serum levels of IL-18, KL-6, ferritin and anti-MDA5 antibody (>200 units

by ELISA) are associated with RP-ILD in JDM and are indications for early intensive treatment.

Rheumatology key messages

- Rapidly progressive interstitial lung disease is a major cause of death in Japanese patients with JDM and needs early attention.
- Elevated serum IL-18, KL-6, ferritin and MDA5 antibodies are associated with RP-ILD.
- Both autoimmune processes and alveolar macrophages could be involved in the development of JDM-associated RP-ILD.

Acknowledgements

The authors thank Dr Yoichi M. Ito (Hokkaido University) for his advice on statistical analyses and Drs Kazuko Yamazaki (Yokohama City University), Takahisa Mizuno (Gunma University), Masashi Uchida (Tokuyama Central Hospital) and Yoshiaki Shikama (Kanagawa Children's Medical Center) for providing the data and serum samples from patients. We also thank Miyako Nakagawa and Etsuko Iwata for excellent technical assistance.

Funding: This work was supported by a Health Labour Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Disclosure statement: The authors have declared no conflicts of interest.

References

- 1 Bohan A, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis. *N Engl J Med* 1975;292:344–7.
- 2 Mendez EP, Lipton R, Ramsey-Goldman R *et al*. US incidence of juvenile dermatomyositis, 1995–1998: results from the National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases Registry. *Arthritis Rheum* 2003;49:300–5.
- 3 Symmons DP, Sills JA, Davis SM. The incidence of juvenile dermatomyositis: results from a nationwide study. *Br J Rheumatol* 1995;34:732–6.
- 4 Bitnum S, Daeschner CW Jr, Travis LB, Dodge WF, Hopps HC. Dermatomyositis. *J Pediatr* 1964;64:101–31.
- 5 Feldman BM, Rider LG, Reed AM, Pachman LM. Juvenile dermatomyositis and other idiopathic inflammatory myopathies of childhood. *Lancet* 2008;371:2201–12.
- 6 Ravelli A, Trail L, Ferrari C *et al*. Long-term outcome and prognostic factors of juvenile dermatomyositis: a multinational, multicenter study of 490 patients. *Arthritis Care Res* 2010;62:63–72.
- 7 Mukae H, Ishimoto H, Sakamoto N *et al*. Clinical differences between interstitial lung disease associated with clinically amyopathic dermatomyositis and classical dermatomyositis. *Chest* 2009;136:1341–7.
- 8 Kobayashi S, Higuchi K, Tamaki H *et al*. Characteristics of juvenile dermatomyositis in Japan. *Acta Paediatr Jpn* 1997;39:257–62.

- 9 Sanner H, Aaløkken TM, Gran JT *et al.* Pulmonary outcome in juvenile dermatomyositis: a case-control study. *Ann Rheum Dis* 2011;70:86–91.
- 10 Yokota S, Takei S, Miyoshi M *et al.* The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan Study Group Report on Severe Pediatric Rheumatic Disease. Tokyo: Ministry of Health, Labour and Welfare 2010.
- 11 Kobayashi I, Ono S, Kawamura N *et al.* A serum level of KL-6 is a marker for interstitial lung disease associated with juvenile dermatomyositis. *J Pediatr* 2001; 138:274–6.
- 12 Sato S, Hirakata M, Kuwana M *et al.* Autoantibodies to a 140-kd polypeptide, CADM-140, in Japanese patients with clinically amyopathic dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 2005;52:1571–6.
- 13 Sato S, Hoshino K, Satoh T *et al.* RNA helicase encoded by melanoma differentiation-associated gene 5 is a major autoantigen in patients with clinically amyopathic dermatomyositis: association with rapidly progressive interstitial lung disease. *Arthritis Rheum* 2009;60:2193–200.
- 14 Kobayashi I, Okura Y, Yamada M *et al.* Anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody is a diagnostic and predictive marker for interstitial lung diseases associated with juvenile dermatomyositis. *J Pediatr* 2011;158: 675–7.
- 15 Kumanovics G, Magyarlaki T, Komocsi A, Szekeres G, Czirkak L. Simultaneous presence of neutrophil alveolitis and Ki-67 positivity of alveolar macrophages in dermatomyositis and systemic sclerosis. *Rheumatol Int* 2003; 23:6–10.
- 16 Tucci M, Quatraro C, Dammacco F, Silvestris F. Interleukin-18 overexpression as a hallmark of the activity of autoimmune inflammatory myopathies. *Clin Exp Immunol* 2006;146:21–31.
- 17 Gono T, Kawaguchi Y, Sugiura T *et al.* Interleukin-18 is a key mediator of dermatomyositis: potential contribution to development of interstitial lung disease. *Rheumatology* 2010;49:1878–81.
- 18 Kaser A, Kaser S, Kaneider NC *et al.* Interleukin-18 attracts plasmacytoid dendritic cells (DC2s) and promotes Th1 induction by DC2s through IL-18 receptor expression. *Blood* 2004;103:648–55.
- 19 Gerami P, Walling HW, Lewis J, Doughty L, Sonthier RD. A systematic review of juvenile-onset clinically amyopathic dermatomyositis. *Br J Dermatol* 2007;157:637–44.
- 20 Kobayashi I, Yamada M, Kawamura N *et al.* Platelet-specific hemophagocytosis in a patient with juvenile dermatomyositis. *Acta Paediatr* 2000;89:617–9.
- 21 Kobayashi I, Yamada M, Takahashi Y *et al.* Interstitial lung disease associated with juvenile dermatomyositis: clinical features and efficacy of cyclosporine A. *Rheumatology* 2003;43:371–4.
- 22 Sakurai N, Nagai K, Tsutsumi H, Ichimiya S. Anti-CADM-140 antibody-positive juvenile dermatomyositis with rapidly progressive interstitial lung disease and cardiac involvement. *J Rheumatol* 2011;38:963–4.
- 23 Nagai Y, Mizuno T, Yoshizawa C, Ishikawa O. Fatal interstitial pneumonia in juvenile dermatomyositis. *Eur J Dermatol* 2010;20:208–10.
- 24 Ishikawa J, Shikama Y, Takahashi E, Akagi K. Rapidly progressive interstitial pneumonia with juvenile dermatomyositis [in Japanese]. *J Jpn Pediatr Soc* 2011;115:793–9.
- 25 Nonaka Y, Imanaka H, Nerome Y *et al.* A case of anti-Jo-1 antibody-positive juvenile dermatomyositis complicated by interstitial lung disease: successful treatment with cyclosporine A [in Japanese]. *J Jpn Pediatr Soc* 2008;112: 719–23.
- 26 Miller LC, Michael AF, Kim Y. Childhood dermatomyositis. Clinical course and long-term follow-up. *Clin Pediatr* 1987; 26:561–6.
- 27 McCann LJ, Juggins AD, Maillard SM *et al.* The Juvenile Dermatomyositis National Registry and Repository (UK and Ireland)—clinical characteristics of children recruited within the first 5 years. *Rheumatology* 2006;45:1255–60.
- 28 Huber AM, Mamirova G, Lachenbruch PA *et al.* Early illness features associated with mortality in the juvenile idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Care Res* 2014;66:732–40.
- 29 Kang EH, Nakashima R, Mimori T *et al.* Myositis autoantibodies in Korean patients with inflammatory myositis: anti-140-kDa polypeptide antibody is primarily associated with rapidly progressive interstitial lung disease independent of clinically amyopathic dermatomyositis. *BMC Musculoskelet Disord* 2010;11:223.
- 30 Kono H, Inokuma S, Nakayama H, Suzuki M. Pneumomediastinum in dermatomyositis: association with cutaneous vasculopathy. *Ann Rheum Dis* 2000;59:372–6.
- 31 Sato S, Kuwana M, Fujita T, Suzuki Y. Anti-CADM-140/MDA5 autoantibody titer correlates with disease activity and predicts disease outcome in patients with dermatomyositis and rapidly progressive interstitial lung disease. *Mod Rheumatol* 2013;23:496–502.
- 32 Nakashima R, Imura Y, Kobayashi S *et al.* RIG-I-like receptor IFIH1/MDA5 is a dermatomyositis-specific autoantigen identified by the anti-CADM-140 antibody. *Rheumatology* 2010;49:433–40.
- 33 Hall JC, Casciola-Rosen L, Samedy L-A *et al.* Anti-melanoma differentiation-associated protein 5-associated dermatomyositis: expanding the clinical spectrum. *Arthritis Care Res* 2013;65:1307–15.
- 34 Shimizu M, Yokoyama T, Yamada K *et al.* Distinct cytokine profiles of systemic-onset juvenile idiopathic arthritis-associated macrophage activation syndrome with particular emphasis on the role of interleukin-18 in its pathogenesis. *Rheumatology* 2010;49:1645–53.
- 35 Gono T, Miyake K, Kawaguchi Y *et al.* Hyperferritinaemia and macrophage activation in a patient with interstitial lung disease with clinically amyopathic DM. *Rheumatology* 2012;51:1336–8.
- 36 Gono T, Kawaguchi Y, Hara M *et al.* Increased ferritin predicts development and severity of acute interstitial lung disease as a complication of dermatomyositis. *Rheumatology* 2010;49:1354–60.
- 37 Gono T, Kawaguchi Y, Ozeki E *et al.* Serum ferritin correlates with activity of anti-MDA5 antibody-associated acute interstitial lung disease as a complication of dermatomyositis. *Mod Rheumatol* 2011;21:223–7.
- 38 Englund P, Wahlström J, Fathi M *et al.* Restricted T cell receptor BV gene usage in the lungs and muscles of

- patients with idiopathic inflammatory myopathies. *Arthritis Rheum* 2007;56:372–83.
- 39 Kourakata H, Takada T, Suzuki E *et al*. Flow cytometric analysis of bronchoalveolar lavage fluid cells in polymyositis/dermatomyositis with interstitial pneumonia. *Respirology* 1999;4:223–8.
- 40 Monneaux F, Muller S. Epitope spreading in systemic lupus erythematosus: identification of triggering peptide sequences. *Arthritis Rheum* 2002;46:1430–8.
- 41 Satoh H, Kurishima K, Ishikawa H *et al*. Increased levels of KL-6 and subsequent mortality in patients with interstitial lung diseases. *J Intern Med* 2006;260:429–34.
- 42 Kohno N, Kyoizumi S, Awaya Y *et al*. New serum indicator of interstitial pneumonitis activity: sialylated carbohydrate antigen KL-6. *Chest* 1989;96:68–73.
- 43 Yokoyama A, Kohno N, Hamada H *et al*. Circulating KL-6 predicts the outcome of rapidly progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1680–4.
- 44 Gono T, Sato S, Kawaguchi Y *et al*. Anti-MDA5 antibody, ferritin and IL-18 are useful for the evaluation of response to treatment in interstitial lung disease with anti-MDA5 antibody-positive dermatomyositis. *Rheumatology* 2012; 51:1563–70.
- 45 Kameda H, Nagasawa H, Ogawa H *et al*. Combination therapy with corticosteroids, cyclosporine A, and intravenous pulse cyclophosphamide for acute/subacute interstitial pneumonia in patients with dermatomyositis. *J Rheumatol* 2005;32: 1719–26.

A CD57⁺ CTL Degranulation Assay Effectively Identifies Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Type 3 Patients

Masayuki Hori¹ · Takahiro Yasumi¹ · Saeko Shimodera¹ · Hirofumi Shibata¹ · Eitaro Hiejima¹ · Hirotsugu Oda^{1,2} · Kazushi Izawa¹ · Tomoki Kawai¹ · Masataka Ishimura³ · Naoko Nakano⁴ · Ryutaro Shirakawa⁵ · Ryuta Nishikomori¹ · Hidetoshi Takada³ · Satoshi Morita⁶ · Hisanori Horiuchi⁵ · Osamu Ohara^{2,7} · Eiichi Ishii⁴ · Toshio Heike¹

Received: 1 June 2016 / Accepted: 17 November 2016 / Published online: 28 November 2016
© Springer Science+Business Media New York 2016

Abstract

Purpose Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) is a genetic disorder that results in immune dysregulation. It requires prompt and accurate diagnosis. A natural killer (NK) cell degranulation assay is often used to screen for FHL3 patients. However, we recently encountered two cases of late-onset FHL3 carrying novel *UNC13D* missense mutations: in these cases, the degranulation assays using freshly isolated and interleukin (IL)-2-activated NK cells yielded contradictory results. Since the defective degranulation of CD57⁺ cytotoxic T lymphocytes (CTLs) in these cases was helpful for making the diagnosis, we assessed whether the CD57⁺ CTL degranulation assay more effectively identified FHL3 patients than the NK cell assays.

Methods Forty additional patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis were prospectively screened for FHL3 by measuring the perforin expression in NK cells and the expression of Munc13-4, syntaxin-11, and Munc18-2 in platelets and by performing NK cell and CTL degranulation assays. The results were confirmed by genetic analysis.

Results The freshly isolated NK cell degranulation assay detected FHL3 patients with high sensitivity (100%) but low specificity (71%). The IL-2-stimulated NK cell assay had improved specificity, but 3 out of the 31 non-FHL3 patients still showed degranulation below the threshold level. The CD57⁺ CTL degranulation assay identified FHL3 patients with high sensitivity and specificity (both 100%).

Conclusions The CD57⁺ CTL degranulation assay more effectively identified FHL3 patients than the NK cell-based assays.

✉ Takahiro Yasumi
yasumi@kuhp.kyoto-u.ac.jp

Keywords Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 · lysosomal degranulation defect · functional screening assay · *UNC13D*

¹ Department of Pediatrics, Kyoto University Graduate School of Medicine, 54 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan

² Laboratory for Integrative Genomics, RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, Yokohama, Japan

³ Department of Pediatrics, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan

⁴ Department of Pediatrics, Ehime University Graduate School of Medicine, Toon, Japan

⁵ Department of Molecular and Cellular Biology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, Sendai, Japan

⁶ Department of Biomedical Statistics and Bioinformatics, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan

⁷ KAZUSA DNA Research Institute, Kisarazu, Japan

Introduction

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a life-threatening syndrome that is characterized by immune dysregulation and hyper-inflammation. It is also histologically characterized by the presence of benign hemophagocytic macrophages [1–3]. HLH is classified into primary (genetic) or secondary (acquired) forms, but this distinction is difficult to make in clinical practice [1, 2].

Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL) is the main form of primary HLH. Several FHL mutations have been identified, namely, in the genes encoding perforin (*PRF1*;

FHL2) [4], Munc13-4 (*UNC13D*; FHL3) [5], syntaxin-11 (*STX11*; FHL4) [6], and Munc18-2 (also known as syntaxin-binding protein 2) (*STXBP2*; FHL5) [7, 8]. Perforin is an effector molecule that is contained in the cytolytic granules of cytotoxic T lymphocytes (CTLs) and natural killer (NK) cells. Munc13-4, syntaxin-11, and Munc18-2 are involved in the intracellular trafficking or the fusion of these granules to the plasma membrane and the delivery of their contents into target cells. Thus, the hallmark finding of FHL is the defective cytotoxic activity of CTLs and NK cells [9].

The early diagnosis of FHL is clinically important because its treatment strategy differs greatly from that of secondary HLH. While aggressive immunosuppressive therapy is required for both the primary and secondary forms of HLH in the initial period, it can be gradually tapered for most secondary HLH cases once the clinical remission is achieved. By contrast, strong maintenance therapy followed by hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is mandatory for patients with FHL [1, 2].

While certain combinations of common laboratory parameters are useful for identifying patients with a high possibility of FHL, functional and molecular analyses are mandatory for confirming the diagnosis [10, 11]. A reliable way to screen for FHL2 is to use flow cytometry to detect perforin expression in NK cells [12, 13]. Functional screening for FHL3-5 involves the detection of CD107a expression on the surface of NK cells; this measures the release of cytolytic granules [7, 8, 14–16]. However, a considerable proportion of secondary HLH patients also exhibits abnormal NK cell degranulation and some patients with FHL3-5 show normal NK cell degranulation after stimulation with interleukin (IL)-2 [16, 17].

Another possibility is to measure CTL degranulation. While such a CTL-based assay has been described, the methodology is not standardized and contradictory results have been reported [16–18]. Nevertheless, numerous studies have shown that the CTL expressing CD57 have high cytotoxic potential [19]. It was also recently reported that CTL expression of CD57 correlates strongly with the intracellular expression of cytolytic molecules such as perforin and granzymes [20] and is a measure of the degranulation capacity of CTLs [21]. Thus, it is proposed that analyzing CD57⁺ CTL degranulation may be useful for detecting patients with defective cytolytic granules release. However, the usefulness of this method has not been evaluated.

In this report, we describe two late-onset FHL3 patients carrying novel *UNC13D* missense mutations. Notably, these patients exhibited normal IL-2-activated NK cell degranulation but had defective CD57⁺ CTL degranulation. The latter observation was helpful for diagnosing these patients. Consequently, to test the ability of the CD57⁺ CTL

degranulation assay to detect FHL3 patients, we prospectively screened HLH patients with this assay. We found that this assay distinguished the FHL3 patients from patients with other forms of HLH with high sensitivity and specificity.

Materials and Methods

Patients

Two late-onset FHL3 cases were diagnosed in 2012 (patients 1 and 2). Thereafter, in February 2013–April 2014, prospective FHL screening was performed on 40 additional patients who were suspected by their referring physicians to have FHL (patients 3–42). As a control, blood obtained from healthy adults at the time of patient sampling was shipped for screening along with the patient samples. None of the patients had any sign of oculo-cutaneous albinism or had giant granules in their peripheral blood leucocytes. FHL was screened by measuring perforin expression in NK cells, by measuring Munc13-4, syntaxin-11, and Munc18-2 expression in platelets and by NK cell and CTL degranulation assays. Genetic analysis was performed in all patients to confirm the results. The characteristics of the enrolled patients and the genetic defects detected in the FHL patients are summarized in Tables 1 and 2, respectively. Informed consent was obtained from the patients and their parents in accordance with the institutional review board of Kyoto University Hospital and the Declaration of Helsinki.

Protein Expression Assays

All patients were assessed for perforin expression by their NK cells and their platelet expression of Munc13-4, syntaxin-11, and Munc18-2 as previously described, with some modifications [22, 23]. To determine the effect of the *UNC13D* missense mutations observed in the two late-onset FHL3 patients on Munc13-4 protein expression, FLAG-tagged complementary DNA (cDNA) carrying wild-type or missense mutated *UNC13D* sequences were constructed and transiently transfected into HEK293T cells. After overnight culture, the cells were harvested with or without additional incubation in the presence of 0.35 mM cycloheximide. Cell extracts were fractionated by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, and the fractionated proteins were electrotransferred onto polyvinylidene fluoride membranes. The membranes were blocked overnight in blocking buffer (5% skim milk) and incubated for 1 h at room temperature with anti-FLAG antibodies, followed by horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit or anti-mouse IgG

Table 1 Characteristics and assay outcomes of the enrolled patients

Patient no.	Final diagnosis	Age (months) at onset	Gender	Fresh NK cell degranulation (%)	Stimulated NK cell degranulation (%)	CD57 ⁺ CTL degranulation (%)
1	FHL3	90	M	5.1 (<i>4.8</i>)	38.2 (<i>40.3</i>)	4.7 (<i>2.5</i>)
2	FHL3	190	F	6.9 (<i>5.6</i>)	43.0 (<i>38.6</i>)	8.6 (<i>9.3</i>)
3	FHL3	1	M	8.1 (<i>8.5</i>)	9.8 (<i>21.2</i>)	0.5 (<i>2.1</i>)
4	FHL3	0	M	2.3 (<i>5.2</i>)	14.1 (<i>33.2</i>)	4.2 (<i>3.7</i>)
5	FHL3	4	F	8.3	43.0	4.5
6	FHL3	9	M	3.7	20.1	0.5
7	FHL3	1	M	8.8	22.2	9.7
8	FHL3	1	M	8.8	23.2	8.0
9	FHL2	1	F	18.0	62.7	38.2
10	FHL2	0	M	29.4	91.8	45.3
11	XLP2	64	M	10.4	73.8	77.4
12	sJIA-MAS	80	M	5.3 (<i>18.2</i>)	46.4	28.7
13	CAEBV	156	M	8.5	51.8	28.1
14	EBV-HLH	15	M	19.4	67.9	30.2
15	EBV-HLH	17	M	9.6 (9.3)	66.2 (<i>70.7</i>)	28.1 (<i>57.6</i>)
16	Unknown	61	M	20.2	73.3	56.0
17	EBV-HLH	14	M	11.3	46.6	74.1
18	Unknown	138	F	20.7	86.7	69.5
19	EBV-HLH	23	F	AU	AU	41.7
20	Sepsis	0	F	6.8	64.7	AU
21	EBV-HLH	62	F	4.4 (<i>32.8</i>)	31.8	13.1 (<i>52.5</i>)
22	Unknown	183	F	13.3	48.8	70.6
23	sJIA MAS	9	F	24.7	73.7	41.8
24	Unknown	20	M	7.5	39.6	22.5
25	Unknown	11	M	29.1	79.9	57.8
26	Unknown	8	F	13.3	55.4	67.0
27	Unknown	12	F	16.2	71.0	77.2
28	EBV-HLH	18	F	AU	AU	98.3
29	Unknown	19	F	16.7	74.9	33.6
30	EBV-HLH	114	F	39.1	AU	76.4
31	HSV-HLH	0	F	6.9	57.9	71.5
32	Unknown	13	F	AU	93.8	AU
33	sJIA-MAS	19	M	31.5	78.7	59.7
34	Unknown	39	F	24.0	81.8	83.2
35	EBV-HLH	21	M	23.1	80.0	49.6
36	EBV-HLH	311	F	6.6	53.6	40.1
37	Unknown	4	M	4.2	66.1	67.8
38	Unknown	14	F	22.7	86.5	56.5
39	Unknown	5	F	14.5	83.5	65.2
40	Unknown	100	F	23.3	68.6	59.3
41	CMV-HLH	0	M	7.9	56.1	51.6
42	EBV-HLH	79	F	19.4	33.0	45.5

The assay results that were below the laboratory-defined thresholds (10% for the fresh NK, 30% for the IL-2 stimulated NK, and 25% for the CD57⁺ CTL assays) are shown in bold letters, while those below the ROC-determined optimum thresholds (9.2% for the fresh NK, 44.7% for the IL-2 stimulated NK, and 11.5% for the CD57⁺ CTL assays) are shown in italics. The numbers in the parentheses indicate the result of the second evaluation and were excluded from the statistical analyses

AU analysis unavailable, HLH hemophagocytic lymphohistiocytosis, FHL familial HLH, XLP X-linked lymphoproliferative syndrome, EBV Epstein-Barr virus, CAEBV chronic active EBV infection, MAS macrophage activation syndrome, sJIA systemic-onset juvenile idiopathic arthritis

polyclonal antibodies (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). Specific bands were visualized by the standard enhanced chemiluminescence method.

Antibodies

Rabbit polyclonal antibodies specific for human Munc13-4 and syntaxin-11 proteins were described previously [23, 24]. Rabbit polyclonal antibodies against human Munc18-2 protein were obtained from Jackson ImmunoResearch Laboratories (West Grove, PA). Rabbit polyclonal anti-integrin α IIb (Santa Cruz Biotechnology), mouse polyclonal anti- β -actin (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), and mouse

monoclonal anti-FLAG (Sigma-Aldrich) antibodies served as primary antibodies in Western blotting. The monoclonal antibodies used in the flow cytometric analyses were fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-CD3 (eBioscience, San Diego, CA), phycoerythrin (PE)-Cy7-conjugated anti-CD3 (Beckman Coulter, Brea, CA), FITC-conjugated anti-CD8 (eBioscience), V500-conjugated anti-CD16 (BD Biosciences), PE-conjugated anti-CD41a (BD Biosciences, San Jose, CA), allophycocyanin (APC)-conjugated anti-CD56 (Beckman Coulter), APC-conjugated anti-CD57 (BD Biosciences, San Jose, CA), PE-conjugated anti-CD107a (eBioscience), and PE-conjugated anti-perforin (eBioscience).

Table 2 Mutations identified in the FHL patients

Patient no.	Diagnosis	Gene mutated	1st allele	2nd allele
1	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.754-1G>C (S)	c.2759A>G (M)
2	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.1992+1G>A (S)	c.767G>A (M), c.1240C>T (M)
3	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.754-1G>C (S)	c.118-308C>T (T)
4	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.118-308C>T (T)	c.118-308C>T (T)
5	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.2381delT (F)	c.322-1G>A (S)
6	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.754-1G>C (S)	c.1596+1G>C (S)
7	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.118-308C>T (T)	c.1596+1G>C (S)
8	FHL3	<i>UNC13D</i>	c.118-308C>T (T)	c.1596+1G>C (S)
9	FHL2	<i>PRF1</i>	c.1090_1091delCT (F)	c.1288_1289insG (F)
10	FHL2	<i>PRF1</i>	c.1090_1091delCT (F)	c.1A>G (LS)

Predicted mutation effects are shown in parentheses

S splice error, M missense, T transcriptional dysregulation, F frameshift, LS loss of start codon

Mutation Analyses

Genomic DNA was isolated from the peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of the patients by standard procedures. Primers were designed to amplify the coding exons and adjacent intronic sequences of the *PRF1*, *UNC13D*, *STX11*, *STXBP2*, *SH2D1A*, *BIRC4*, and *ITK* genes. Primers that would detect the deep intronic mutation in the *UNC13D* intron 1 were also designed. Primer sequences are available upon request. The amplified products were sequenced with an Applied Biosystems ABI3130 Genetic Analyzer (Life Technologies, Carlsbad, CA) or with a GS Junior System (Roche, Basel, Switzerland).

Lysosomal Degranulation Assays

To quantify lysosome exocytosis by NK cells, 2×10^5 PBMCs that were freshly isolated or stimulated for 36–48 h with IL-2 (50 U/mL) were cultured with or without 2×10^5 K562 cells and incubated in complete medium (RPMI 1640 medium supplemented with 2 mM L-glutamine and 10% fetal calf serum) for 2 h at 37 °C in 5% CO₂. For CTL degranulation analyses, 2×10^5 PBMCs stimulated for 36–48 h with IL-2 (50 U/mL) were cultured with 2×10^5 P815 cells with or without 0.5 µg/mL anti-CD3 mAb (OKT3). The cells were resuspended in phosphate-buffered saline supplemented with 2% fetal calf serum and 2 mM EDTA; stained with anti-CD3, anti-CD8, anti-CD16, anti-CD56, anti-CD57, and anti-CD107a monoclonal antibodies; and then analyzed by flow cytometry.

Statistical Analyses

Receiver operating characteristic (ROC) analysis was performed to determine the optimal threshold of each assay that would discriminate FHL3 patients from other HLH patients with the greatest sum of sensitivity and specificity. Laboratory-defined thresholds were also determined (i.e., the

lowest degranulation value observed in the control subjects). The sensitivity and specificity of each assay were evaluated on the basis of these thresholds. The controls were excluded from the analyses. In the case of patients who were tested multiple times with particular assays, only the data from the first evaluation were included in the statistical analyses.

Results

Late-Onset FHL3 Patients

Patient 1 was a 90-month-old boy who developed HLH after a *Mycoplasma pneumoniae* infection (Table 1). Oral prednisolone was effective in controlling the disease, but subsequent tapering of the drug resulted in disease recurrence that associated with cerebral symptoms. Genetic analysis identified compound heterozygous *UNC13D* mutations, namely, c.754-1G>C on the paternal allele and c.2759A>G (p.Y920C) on the maternal allele (Table 2). Patient 2 was a girl who developed HLH associated with the abnormal infiltration of non-malignant lymphocytes in a vertebra at the age of 190 months (Table 1). She also developed cerebral symptoms but responded well to oral prednisolone therapy. *UNC13D* sequencing revealed that she carried a c.1992+1G>A mutation on the paternal allele and two missense mutations, namely, c.767G>A (p.R256Q) and c.1240C>T (p.R414C), on the maternal allele (Table 2).

Since the missense mutations found in the patients were novel, the diagnosis of FHL3 could not be made with certainty. Moreover, although the freshly isolated PBMCs of both cases exhibited decreased NK cell degranulation, their IL-2-stimulated NK cells released normal levels of cytolytic granules (Fig. 1a, b). Nevertheless, they both exhibited defective degranulation of their CD57⁺ CTLs (Fig. 1c) and reduced expression of platelet Munc13-4 protein. These findings strongly supported the diagnosis of FHL3 (Fig. 1d). We

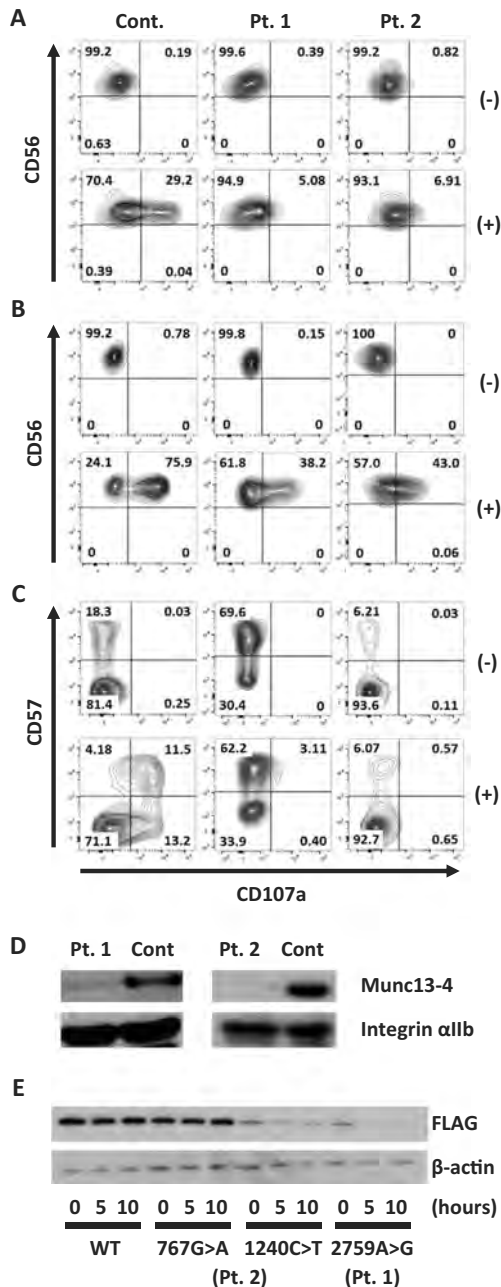


Fig. 1 FHL3 screening results of late-onset FHL3 patients. Freshly isolated (a) or IL-2 stimulated (b) PBMCs were co-cultured with (+) or without (-) K562 cells, and the expression of CD107a on the CD3⁻CD16⁺CD56⁺ cell population was evaluated. c IL-2-stimulated PBMCs were co-cultured with P815 cells in the presence (+) or absence (-) of an anti-CD3 antibody and the expression of CD107a on the CD3⁺CD8⁺ cell population was evaluated. d Munc13-4 protein expression in the platelets of the patients was evaluated by Western blotting. e HEK293T cells were transfected with FLAG-tagged cDNA carrying wild-type or missense mutated *UNC13D* sequences. After overnight culture, the cells were harvested with or without additional incubation in the presence of cycloheximide for 0, 5, and 10 h. The Munc13-4 protein expression levels were then analyzed by Western blotting. WT wild type. Representative results of two independent experiments are shown

therefore assessed whether the *UNC13D* missense mutations in our patients were responsible for their reduced platelet Munc13-4 expression by transfecting HEK293T cells with FLAG-tagged cDNA carrying wild-type or missense *UNC13D* sequences. Indeed, the c.2759A>G mutation in patient 1 and the c.1240C>T (but not the c.767G>A) mutation in patient 2 were responsible for the reduced Munc13-4 protein expression (Fig. 1e). This confirmed the diagnosis of FHL3 in patients 1 and 2.

Comparison of Degranulation Assays

Given that the CD57⁺ CTL degranulation assay more effectively identified our late-onset FHL3 patients than the NK cell-based assays, we compared these three assays prospectively with 40 additional pediatric HLH patients who were recruited after patients 1 and 2 were diagnosed (Table 1). Six of the 40 patients (patients 3–8) had FHL3. None of these patients carried missense *UNC13D* mutations (Table 2). As shown in Fig. 2a, the freshly stimulated NK cells from the six FHL3 patients exhibited decreased cytolytic granule release. However, the NK cells from the non-FHL3 patients also showed some defects in degranulation. When using the laboratory-defined threshold of 10%, the degranulation assay with freshly stimulated NK cells was found to discriminate FHL3 patients from other HLH patients with a sensitivity of 100% and a specificity of 68%. ROC analysis showed that the optimum threshold value was 9.2%. When this value was used as the discriminatory threshold, the specificity improved to 71% without changing the sensitivity.

While IL-2 stimulation restored the degranulation of NK cells from the non-FHL patients in all cases, the IL-2-stimulated NK cells from a FHL3 patient (patient 5), similar to the IL-2-stimulated NK cells from patients 1 and 2, showed normal degranulation levels. The laboratory-defined threshold of 30% showed that the IL-2-stimulated NK cell degranulation assay discriminated FHL3 patients from other HLH patients with a specificity of 100% but a low sensitivity of 63%. ROC analysis showed that the optimum threshold value was 44.7%. When this threshold was used, the sensitivity improved to 100%; however, the specificity decreased to 90% (Fig. 2b).

By contrast, when the laboratory-defined threshold of 25% was used for CD57⁺ CTL degranulation assay, this assay discriminated FHL3 patients from other HLH patients with a sensitivity of 100% and a specificity of 94%. ROC analysis indicated that the optimum threshold was 11.5%. When this value was used, both the sensitivity and specificity were 100% (Fig. 2c).

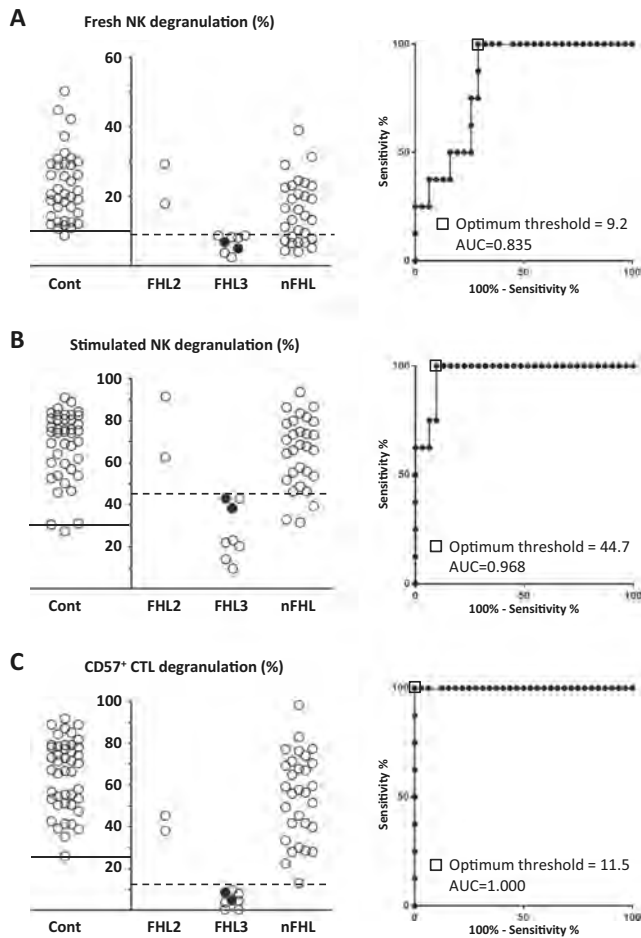


Fig. 2 Sensitivity and specificity with which the NK and CD57⁺ CTL degranulation assays discriminate FHL3 patients from other HLH patients. The figures show the results of lysosomal degranulation assays and their ROC curves using the freshly isolated NK cells (a), IL-2 stimulated NK cells (b), and of IL-2 stimulated CD57⁺ CTLs (c) of the enrolled patients. *Solid lines* indicate the laboratory-defined threshold values, while *dashed lines* indicate the optimum threshold values that were determined by ROC analyses to discriminate FHL3 patients from other HLH patients. *Closed circles* indicate patients 1 and 2. *nFHL* non-FHL

Discussion

FHL is a life-threatening inherited immune disorder that is caused by mutations in genes that participate in the cytotoxic activity of lymphocytes. The inability to clear the antigenic stimulus hyper-activates cytolytic lymphocytes. This results in over-production of inflammatory cytokines, which, in turn, leads to sustained inflammation and activation of macrophages [1, 2, 9]. The ability to rapidly screen for FHL rapidly would facilitate the initiation of life-saving immunosuppressive therapy and the preparations for HSCT.

The lysosomal exocytosis assay is a comprehensive method that is used to identify patients with a degranulation defect. It has been used to screen for FHL3-5 and hereditary HLH syndromes associated with oculo-cutaneous albinism [7, 8,

14–16]. In the present study, the FHL3 patients exhibited reduced degranulation of resting NK cells. However, as was shown by a previous study [16], non-FHL3 patients also exhibited some defects in resting NK cell degranulation (Fig. 2a). While IL-2 stimulation restored the degranulation of the NK cells from these non-FHL3 patients, the degranulation of the IL-2-stimulated NK cells from some of the FHL3 patients was comparable to that seen in the control subjects (Fig. 2b). By contrast, the decreased degranulation of CD57⁺ CTLs was more indicative of FHL3 patients (Fig. 2c). Specifically, when laboratory-defined thresholds were used to discriminate FHL3 patients from the other HLH patients, the fresh NK cell degranulation assay had a sensitivity and specificity of 100 and 68%, respectively, while the IL-2-stimulated NK cell degranulation assay had a sensitivity and specificity of 63 and 100%, respectively. Thus, when using laboratory-defined thresholds, the CD57⁺ CTL assay was as sensitive as the fresh NK cell assay and a bit less specific than the IL-2-stimulated NK cell assay. However, while 18 patients in total exhibited decreased degranulation below the threshold levels of either NK cell assay, only ten patients exhibited decreased degranulation of CD57⁺ CTLs (Table 1). This is clinically important because it means that the CD57⁺ CTL assay essentially made genetic testing unnecessary for eight patients. Moreover, when ROC-determined optimal thresholds were used to discriminate FHL3 patients from the other HLH patients, the fresh NK cell degranulation assay had a sensitivity and specificity of 100 and 71%, respectively, while the IL-2-stimulated NK cell degranulation assay had a sensitivity and specificity of 100 and 90%, respectively. By contrast, the sensitivity and specificity of the CD57⁺ CTL degranulation assay were both 100%. Notably, one patient with other forms of HLH exhibited CD57⁺ CTL degranulation levels just above the optimum threshold (patient 21 in Table 1): 1 week later, however, this patient exhibited normal degranulation levels. This was in clear contrast to the reevaluated FHL3 patients (patients 1–4 in Table 1), all of whom showed sustained defects in CD57⁺ CTL degranulation. Although it is possible that immunosuppressive therapies may affect CTL function, the two FHL2 patients who had been treated with multiple immunosuppressive drugs exhibited normal lysosomal degranulation. Thus, these treatments had minimal effects on the assay. Taken together, we propose that the CD57⁺ CTL degranulation assay effectively identifies FHL3 patients.

A workflow for the diagnosis of primary HLH has been proposed on the basis of a study by Bryceson et al. on HLH patients in Europe. The assays using NK cells were the mainstay screening methods for identifying patients with a defect in cytolytic granule exocytosis. The study reported that these assays had a higher specificity than the assays reported in the current study [16]. However, in the study by Bryceson et al., secondary HLH patients were defined as patients who developed a single episode that fulfilled the clinical criteria for HLH

and exhibited sustained complete remission for at least 6 months after completing HLH therapy; patients with a refractory HLH course were excluded from the statistical analysis. Examination of these excluded patients showed that many had reduced NK cell degranulation [16]. Since the patient cohort in the present study included many patients with a severe and refractory course of HLH, we believe that the results of our analysis are similar to those reported by Bryceson et al.

The current study suggests that the CD57⁺ CTL degranulation assay may be more useful for diagnosing FHL3 than the assays employing NK cells. However, several issues must be addressed before it can serve as a standard method. One limitation of this assay is that neonates and young infants have very few numbers of CD57-expressing CTLs in their peripheral blood [25]. Indeed, we could not perform the analysis in two non-FHL patients due to the extreme paucity of this cell population (Table 1). However, all FHL patients in this study had substantial numbers of CD57⁺ CTLs in their peripheral blood. This probably reflects the pathophysiology of the disease. Another limitation of the current study was the lack of patients with other forms of genetic degranulation defects; this reflects their extreme rarity. While a patient with *BIRC4* deficiency (X-linked lymphoproliferative syndrome type 2) was included in our cohort (Table 1), this hereditary HLH syndrome does not associate directly with cytolytic defects [26, 27]. Further evaluations are required to determine whether the CD57⁺ CTL degranulation assay is useful for screening FHL4, FHL5, and hereditary HLH syndromes with oculocutaneous albinism. Notably, all FHL3 patients who have been diagnosed at our laboratory (including eight patients presented in this study) lack or have significantly reduced platelet Munc13-4 protein expression (data not shown). This suggests that the detection of Munc13-4 expression is another useful method for screening for FHL3.

The fact that two late-onset FHL3 cases had relatively well-preserved activated NK cell degranulation yet still had poor CD57⁺ CTL degranulation suggests that Munc13-4 protein may play different roles in the lysosomal degranulation of the two cell subsets. While the molecular mechanism underlying this phenomenon is unclear, we speculate that the preserved degranulation capacity of NK cells may have influenced the clinical picture of the patients. CTLs and NK cells play distinct roles in the pathogenesis of FHL. Analysis of perforin-deficient mice showed that CTLs, but not NK cells, are necessary for the development of FHL symptoms [28]. Moreover, a recent report shows that NK cell cytotoxicity plays an immunoregulatory role and protects against FHL pathology [29]. In addition, FHL3 patients with atypical presentations, like our two late-onset cases, are reported to have relatively preserved NK cell degranulation, especially after culture with IL-2 [17]. Indeed, another FHL3 patient in our cohort who showed high levels of activated NK cell degranulation (patient 5 in Table 1) only developed the symptoms of

HLH at 4 months of age: this is relatively late for FHL3. We speculate that the preserved cytolytic capacity of NK cells had contributed to the mild clinical courses of these three patients.

Conclusions

We propose that the CD57⁺ CTL degranulation assay effectively discriminates FHL3 patients from those with other forms of HLH. Further studies that assess whether these assays are useful for screening patients with FHL4, FHL5, and other forms of degranulation defect-associated hereditary HLH syndromes are warranted.

Acknowledgements The authors are grateful to all of the participating patients, their families, and the referring physicians for their generous cooperation.

Authorship Contributions Contribution: T.Y., R.N., and T.H. designed the research; M.I., N.N., H.T., and E.I. treated patients 1 and 2; M.H., S.S., H.S., E.H., K.I., and T.K. performed the degranulation and protein expression assays; H.O. and O.O. performed the genetic analyses; R.S. and H.H. prepared the anti-Munc13-4 and anti-Syntaxin11 antibodies; M.H., T.Y., K.I., T.K., R.N., S.M., and T.H. analyzed and discussed the results; T.Y. and S.M. performed the statistical analysis; and M.H. and T.Y. wrote the paper.

Compliance with Ethical Standards Informed consent was obtained from the patients and their parents in accordance with the institutional review board of Kyoto University Hospital and the Declaration of Helsinki.

Conflict of Interest The authors declare that they have no competing interests.

Funding This work was supported by JSPS KAKENHI (Grant Numbers 26461582 and 25670475) and by grants from the “Research on Measures for Intractable Diseases” Project: matching fund subsidy from the Japanese Ministry of Health, Labor, and Welfare.

References

- Chandrakasan S, Filipovich AH. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *J Pediatr*. 2013;163(5):1253–9.
- Janka GE, Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes—an update. *Blood Rev*. 2014;28(4):135–42.
- Brisse E, Wouters CH, Matthys P. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): a heterogeneous spectrum of cytokine-driven immune disorders. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2015;26(3):263–80.
- Stepp S, Dufourcq-Lagelouse R, Le Deist F, Bhawan S, Certain S, Mathew P, et al. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Science*. 1999;286(5446):1957–9.
- Feldmann J, Callebaut I, Raposo G, Certain S, Bacq D, Dumont C, et al. Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL3). *Cell*. 2003;115(4):461–73.
- zur Stadt U, Schmidt S, Kasper B, Beutel K, Diler A, Henter J, et al. Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL)

- type-4 to chromosome 6q24 and identification of mutations in syntaxin 11. *Hum Mol Genet.* 2005;14(6):827–34.
7. Côte M, Ménager M, Burgess A, Mahlaoui N, Picard C, Schaffner C, et al. Munc18-2 deficiency causes familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 and impairs cytotoxic granule exocytosis in patient NK cells. *J Clin Invest.* 2009;119(12):3765–73.
 8. zur Stadt U, Rohr J, Seifert W, Koch F, Grieve S, Pagel J, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL-5) is caused by mutations in Munc18-2 and impaired binding to syntaxin 11. *Am J Hum Genet.* 2009;85(4):482–92.
 9. Sieni E, Cetica V, Hackmann Y, Coniglio ML, Da Ros M, Ciambotti B, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: when rare diseases shed light on immune system functioning. *Front Immunol.* 2014;5:167.
 10. Lehmborg K, Pink I, Eulenburg C, Beutel K, Maul-Pavicic A, Janka G. Differentiating macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis from other forms of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Pediatr.* 2013;162(6):1245–51.
 11. Yasumi T, Hori M, Hiejima E, Shibata H, Izawa K, Oda H, et al. Laboratory parameters identify familial haemophagocytic lymphohistiocytosis from other forms of paediatric haemophagocytosis. *Br J Haematol.* 2015.
 12. Kogawa K, Lee SM, Villanueva J, Marmar D, Sumegi J, Filipovich AH. Perforin expression in cytotoxic lymphocytes from patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis and their family members. *Blood.* 2002;99(1):61–6.
 13. Abdalgani M, Filipovich AH, Choo S, Zhang K, Gifford C, Villanueva J, et al. Accuracy of flow cytometric perforin screening for detecting patients with FHL due to PRF1 mutations. *Blood.* 2015;126(15):1858–60.
 14. Marcenaro S, Gallo F, Martini S, Santoro A, Griffiths GM, Arico M, et al. Analysis of natural killer-cell function in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL): defective CD107a surface expression heralds Munc13-4 defect and discriminates between genetic subtypes of the disease. *Blood.* 2006;108(7):2316–23.
 15. Bryceson YT, Rudd E, Zheng C, Edner J, Ma D, Wood SM, et al. Defective cytotoxic lymphocyte degranulation in syntaxin-11 deficient familial hemophagocytic lymphohistiocytosis 4 (FHL4) patients. *Blood.* 2007;110(6):1906–15.
 16. Bryceson YT, Pende D, Maul-Pavicic A, Gilmour KC, Ufheil H, Vraetz T, et al. A prospective evaluation of degranulation assays in the rapid diagnosis of familial hemophagocytic syndromes. *Blood.* 2012;119(12):2754–63.
 17. Rohr J, Beutel K, Maul-Pavicic A, Vraetz T, Thiel J, Wamatz K, et al. Atypical familial hemophagocytic lymphohistiocytosis due to mutations in UNC13D and STXBP2 overlaps with primary immunodeficiency diseases. *Haematologica.* 2010;95(12):2080–7.
 18. Nagai K, Yamamoto K, Fujiwara H, An J, Ochi T, Suemori K, et al. Subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes. *PLoS One.* 2010;5(11):e14173.
 19. Strioga M, Pasukoniene V, Characiejus D. CD8+ CD28- and CD8+ CD57+ T cells and their role in health and disease. *Immunology.* 2011;134(1):17–32.
 20. Chattopadhyay PK, Betts MR, Price DA, Gostick E, Horton H, Roederer M, et al. The cytolytic enzymes granzyme A, granzyme B, and perforin: expression patterns, cell distribution, and their relationship to cell maturity and bright CD57 expression. *J Leukoc Biol.* 2009;85(1):88–97.
 21. Chiang SC, Theorell J, Entesarian M, Meeths M, Mastafa M, Al-Herz W, et al. Comparison of primary human cytotoxic T-cell and natural killer cell responses reveal similar molecular requirements for lytic granule exocytosis but differences in cytokine production. *Blood.* 2013;121(8):1345–56.
 22. Bode SF, Lehmborg K, Maul-Pavicic A, Vraetz T, Janka G, Stadt UZ, et al. Recent advances in the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Arthritis Res Ther.* 2012;14(3):213.
 23. Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, et al. Rapid diagnosis of FHL3 by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein. *Blood.* 2011;118(5):1225–30.
 24. Shirakawa R, Higashi T, Tabuchi A, Yoshioka A, Nishioka H, Fukuda M, et al. Munc13-4 is a GTP-Rab27-binding protein regulating dense core granule secretion in platelets. *J Biol Chem.* 2004;279(11):10730–7.
 25. Berthou C, Legros-Maida S, Soulie A, Wagnier A, Guillet J, Rabian C, et al. Cord blood T lymphocytes lack constitutive perforin expression in contrast to adult peripheral blood T lymphocytes. *Blood.* 1995;85(6):1540–6.
 26. Yang X, Kanegane H, Nishida N, Imamura T, Hamamoto K, Miyashita R, et al. Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol.* 2012;32(3):411–20.
 27. Latour S, Aguilar C. XIAP deficiency syndrome in humans. *Semin Cell Dev Biol.* 2015;39:115–23.
 28. Jordan MB, Hildeman D, Kappler J, Marrack P. An animal model of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH): CD8+ T cells and interferon gamma are essential for the disorder. *Blood.* 2004;104(3):735–43.
 29. Sepulveda FE, Maschalidi S, Vossenrich CA, Garrigue A, Kurowska M, Menasche G, et al. A novel immunoregulatory role for NK-cell cytotoxicity in protection from HLH-like immunopathology in mice. *Blood.* 2015;125(9):1427–34.

primary immunodeficiency predisposing to dimorphic fungal infection.^{5,6}

HLH is a life-threatening syndrome of hyperinflammation caused by genetic mutations affecting the cytolytic function of T cells and NK cells (primary HLH) or in response to various infections, rheumatologic disorders, or malignancy (secondary HLH). Infection with EBV and other herpesviruses is a common trigger of HLH and in some cases may indicate an underlying primary immunodeficiency.⁷ This is exemplified by X-linked lymphoproliferative disease and the growing number of primary immunodeficiencies characterized by impaired control of EBV infection.⁸ Similar to X-linked lymphoproliferative disease, patients with GATA2 deficiency have marked NK-cell dysfunction and susceptibility to herpesvirus infection, which may lead to aggressive HLH in some cases.^{1,2} A previously reported patient with GATA2 deficiency developed HLH in the setting of marked EBV viremia and an EBV-driven T-cell lymphoproliferative disorder.⁹ In contrast to our patient's fatal course, that patient was successfully treated with etoposide and dexamethasone followed by nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.⁹ These reports suggest that GATA2 deficiency should be considered in the differential diagnosis for herpesvirus-associated HLH and that early hematopoietic stem cell transplantation is critical.

This case further expands the spectrum of infectious and inflammatory complications of GATA2 deficiency. In particular, this case further confirms the importance of GATA2 in host defense against dimorphic fungi and identifies blastomycosis as an infection that can signify primary immunodeficiency. In addition, this case further supports the critical role of NK cells in the immune response to herpesvirus infections, dysfunction of which may lead to HLH.

Michael A. Spinner, MD^a
Jennifer P. Ker, MD^b
Charles J. Stoudenmire, MD^c
Oluwale Fadare, MD^c
Emily M. Mace, PhD^d
Jordan S. Orange, MD, PhD^d
Amy P. Hsu, BA^e
Steven M. Holland, MD^e

From ^athe Department of Medicine, Stanford University Medical Center, Stanford, Calif; ^bthe Division of Allergy, Pulmonary, and Critical Care Medicine, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Tenn; ^cthe Department of Pathology, Microbiology, and Immunology, Vanderbilt University Medical Center, Nashville, Tenn; ^dthe Center for Human Immunobiology, Texas Children's Hospital, Baylor College of Medicine, Houston, Tex; and ^ethe Laboratory of Clinical Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Bethesda, Md. E-mail: smh@nih.gov.

This work was supported by the Division of Intramural Research, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, under project Z01-AI-00647-25.

Disclosure of potential conflict of interest: J. S. Orange has received consultancy fees from Baxter Healthcare, ADMA Biologics, ASD Healthcare, CSL Behring, and Atlantic Research; has provided expert testimony for the State of Arizona; has received research support and lecture fees from CSL Behring; has patents with Children's Hospital of Philadelphia; and has received royalties from UpToDate, Springer, and UniMed. The rest of the authors declare that they have no relevant conflicts of interest.

REFERENCES

1. Spinner MA, Sanchez LA, Hsu AP, Shaw PA, Zerbe CS, Calvo KR, et al. GATA2 deficiency: a protean disorder of hematopoiesis, lymphatics, and immunity. *Blood* 2014;123:809-21.

2. Mace EM, Hsu AP, Monaco-Shawver L, Makedonas G, Rosen JB, Dropulich L, et al. Mutations in GATA2 cause human NK cell deficiency with specific loss of the CD56^{bright} subset. *Blood* 2013;121:2669-77.
3. Siderits RH, Ouattara O, Marcus A, Gao HG, Deng HB, Godyn J. Case study documenting the diagnosis of idiopathic CD4⁺ lymphocytopenia in a patient with atypical fungal infection (disseminated blastomycosis) by FNA of adrenal mass. *Cytojournal* 2010;5:7-13.
4. Imran T, Cui C. GATA2 transcription factor deficiency predisposing to severe disseminated coccidioidomycosis. *Frontiers in Immunology Conference Abstract*. Presented at: 15th International Congress of Immunology. Milan, Italy, August 22, 2013.
5. Zerbe CS, Holland SM. Disseminated histoplasmosis in persons with interferon-gamma receptor 1 deficiency. *Clin Infect Dis* 2005;141:e38-41.
6. Sampaio EP, Hsu AP, Pechacek J, Bax HI, Dias DL, Paulson ML, et al. Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gain-of-function mutations and disseminated coccidioidomycosis and histoplasmosis. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:1624-34.
7. Fajtelson Y, Grunebaum E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis and primary immune deficiency disorders. *Clin Immunol* 2014;155:118-25.
8. Parvaneh N, Filipovich AH, Borkhardt A. Primary immunodeficiencies predisposed to Epstein-Barr virus-driven haematological diseases. *Br J Haematol* 2013;162:573-86.
9. Grossman J, Cuellar-Rodriguez J, Gea-Banacloche J, Zerbe C, Calvo K, Hughes T, et al. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for GATA2 deficiency. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014;20:1940-8.

Available online September 26, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.07.043>

Clinical characteristics and genotype-phenotype correlations in C3 deficiency



To the Editor:

The complement system comprises 3 initiation pathways: the classical, lectin, and alternative pathways. Although each pathway is activated individually, they converge at the C3 step and subsequently follow a common pathway, indicating that C3 is a pivotal complement factor. A single-chain precursor (Pro-C3) of approximately 200 kDa is produced intracellularly, and subsequently proteolytically cleaved into 2 subunits, α (115 kDa) and β (70 kDa) subunits. Both α and β subunits assemble by a disulfide bond yielding the mature C3 protein. The C3 protein consists of 13 domains¹: 8 macroglobulin domains (MG1-8); anaphylatoxin (ANA); linker (LNK); complement C1r/C1s, Uegf, Bmp1 (CUB); thioester-containing domain (TED); and C345 C domains.

C3 deficiency is a rare autosomal-recessive inherited disorder that is characterized by susceptibility to recurrent bacterial infections, although some cases are associated with autoimmune diseases.² However, no definite genotype-phenotype correlations have been established to date, possibly because of the extremely low prevalence of the disorder. In the present study, we investigated the clinical features of our 4 cases³⁻⁶ of C3 deficiency and reviewed previously reported cases to clarify the genotype-phenotype correlations in this disorder. We searched for English and Japanese articles describing C3 deficiency in PubMed, Ovid, and Google Scholar from 1972 (first reported year of C3 deficiency) to December 2014. From 511 articles, we selected 43 articles reporting biochemically diagnosed C3 deficiency regardless of confirmation by molecular analysis, and collected their genetic and clinical information.

Thirty-seven cases (29 families) of various races have been identified from different regions in the world (Table I). Clinical features could be divided into 3 groups: severe infections, rheumatic diseases, and renal diseases. We arbitrarily defined the criteria for severe infections in this study as follows: infections

TABLE I. Clinical features, C3 values, C3 mutations, and sibling history in 37 patients with C3 deficiency from 29 families

Patient no.	Published year	Ethnicity	Age at diagnosis/		C3 (mg/dL)	C3 molecular analysis	Clinical features	Sibling history	Reference
			C	sex					
Severe infections									
1.	1972 1976 1989 1992	White South African	+	15 y/F	<0.25	800-bp deletion (homo)	Meningitis × 2, pneumonia × 14, recurrent otitis media, paronychia, impetigo, Sweet syndrome		E1-E4
2.	1976	White South African	-	4 y/M	0	NA	Meningitis × 6, recurrent tonsillitis, pneumonia × 2, deceased	Deceased, meningitis	E5
3.	1977	Unknown	+	2 y/M	<3	NA	Otitis media × 2, persistent fever (52 d), maculopapular rash, arthralgia	Deceased, encephalitis	E6
4.	1977	Unknown	-	5 y/F	<2.5~5	NA	Pneumonia, septic arthritis, recurrent otitis media, and pharyngitis		E7
5.	1981 1994	Taiwanese Aborigines	-	10 y/F	0	IVS10 +1 g>t (homo)	Pneumonia × 12, otitis media × 5, septic arthritis, buttock abscess	Deceased, meningitis	E8,E9
6-1.	1983 1992	Dutch	?	26 y/F	ND	NA	Meningitis × 3, sepsis, recurrent otitis media, skin infections	Deceased, meningitis	E10,E11
6-3.				16 y/F	ND	NA	Septic osteomyelitis, recurrent otitis media, maculopapular rash during infectious episodes		
7.	1988 2002	Brazilian	+	6 y/M	ND	G1655A (K552X) (homo)	Meningitis × 3, pneumonia × 4, otitis media × 4, osteomyelitis × 2, skin infection, UTI, arthritis, giardiasis, fever of unknown origin × 5	Deceased, meningitis, pneumonia, prolonged diarrhea	E12,E13
8.	1990	Unknown	+	10 y/M	ND	IVS18 +1g>a (homo)	Recurrent otitis media, >20 episodes of erythematous plaques during upper respiratory tract infections		E14
9-1.	1992 1994 1995	New Zealander	-	19 y/M	ND	G1645A (D549N) (hetero s/o)*	Bacteremia at age 19 y, purpura		E15-E17
10.	1992	Unknown	+	4 y/F	0.8% of normal	NA	Meningitis × 4, recurrent otitis media	Deceased (2 brothers)	E18
11.	2001 2004	Brazilian	+	8 y/M	0.015	C2542T (R848X) (homo)	Lymphadenitis, sinusitis × 2, pneumonia, tonsillitis × 2, giardiasis	Deceased (4 siblings)	E19,E20
12.	2002	Turkish	+	4 y/F	4	NA	Meningitis × 2, recurrent otitis media	Immuno-compromised	E21
13.	2004	Unknown	-	4 y/M	<10	NA	Bacteremia, iliopsoas abscess, pneumonia × 2, recurrent otitis media, tonsillitis, pharyngitis, accidental death		E22
14-1.	2006	Unknown	?	7 y/F	6	NA	Meningitis × 2, otitis media × 2, UTI × 1	Deceased, meningitis	E23
14-2.				10 mo/M	6	NA	Meningitis, pneumonia, recurrent otitis media		
15.	2008	Unknown	-	2 y/M	<4.3	T1648C (S550P) (hetero s/o)*	Meningitis, pneumonia, otitis media, sinusitis	Deceased, meningitis	E24
16.	2009	Unknown	?	5 y/F	11.2	NA	Meningitis × 4		E25
17.	2011	Arab	+	4 y/M	<10	3997delA (homo)	Pneumonia × 2, bacteremia × 3		E26
18.	2013	Turkish	+	16 y/M	8-19	C4554G (C1518W) (homo)	Recurrent pneumonia, otitis media, bronchiectasis, IgA deficiency	Deceased (2 siblings)	E27
Severe infections and IC-related diseases									
6-2.				19 y/F	ND	NA	Meningitis, recurrent otitis media, maculopapular rash during infectious episodes, subacute cutaneous lupus erythematosus		

(Continued)

TABLE I. (Continued)

Patient no.	Published year	Ethnicity	C	Age at diagnosis/ sex	C3 (mg/dL)	C3 molecular analysis	Clinical features	Sibling history	Reference
19.	1975 1983	White	?	4 y/F	ND	NA	Protracted diarrhea, recurrent otitis media, bacteremia × 2, recurrent UTI, sinusitis, type 1 MPGN		E28,E29
20-2.	1980	Lebanese	?	7 y/F	0	NA	Peritonitis, proteinuria, microhematuria	Nephrotic syndrome	E30
20-3.				5 y/M	0	NA	Peritonitis, proteinuria, left atrophic kidney due to renal artery stenosis		
21.	1985 1988 1996	Laotian	–	7 y/M	0.4	Reduced C3 mRNA	Meningitis × 2, pneumonia × 6, mesangiopathic glomerulonephritis		E31-E33
22-1.	1981	Japanese	+	16 y/M	<1	NA	Meningitis, IgA nephropathy	Deceased, butterfly rash, renal failure	E34,E35
22-2.	1991			14 y/F	ND	NA	Meningitis, SLE-like illness		E36
23.†	2008	Japanese	–	2 y/M	<2	3176dupT and C3243G (Y1081X) (hetero)	Meningitis, bacteremia × 4, pneumonia × 2, otitis media, focal segmental glomerulonephritis, SLE-like illness		E37,E38
24.†	2011 2012	Japanese	–	4y/M	0.3	IVS9 -2a>t and C1432T (R478X) (hetero)	Bacteremia × 2, pneumonia × 2, otitis media, synovitis		E37,E38
25.†	Unpublished	Japanese	–	4 y/M	0	IVS11 +5 g>a and IVS12 -1 g>t (hetero)	Bacteremia, otitis media, sinusitis, membranous nephropathy, SLE-like illness		
IC-related diseases									
20-1.	1980	Lebanese	?	13 y/F	0	NA	Frequent earache, sore throat, abdominal pains, proteinuria, microhematuria/no severe infections	Nephrotic syndrome	E30
26-1.	1981 2001	Japanese	+	19 y/F	ND	C3243G (Y1081X) (homo)	SLE-like illness/no severe infections		E39,E40
26-2.				14 y/F	ND	C3243G (Y1081X) (homo)	SLE-like illness/no severe infections		
27.	1987	Unknown	+	7 y/F	ND	NA	Type 1 MPGN (renal transplantation)/no severe infections		E41
28.	2005	Japanese	+	23 y/M	<2	IVS38 -2a>g (homo)	Tonsillitis and recurrent pneumonia in his late teens, SLE-like illness/mild infections		E42
29.†	2005	Japanese	+	7 y/M	<0.5	3736_3737delTT (homo)	Bronchitis, otitis media, membranous nephropathy/no severe infections		E43
Neither severe infections nor IC-related diseases									
9-2.	1992 1994 1995	New Zealander	–	7 y/F	<5% of normal	G1645A (D549N) (hetero s/o)*	Asthma, rhinitis/no severe infections		E15-E17

Siblings are indicated by the same patient (pt) number with added hyphenated numbers in order of age. (Only No. 22-1 and 22-2 were cousins.)

C, Consanguinity; F, female; M, male; MPGN, membranoproliferative glomerulonephritis; NA, not available; ND, not detected; UTI, urinary tract infection.

*Incomplete analysis.

†Our case.

of normally sterile sites (blood, cerebrospinal fluid, peritoneal fluid, joint fluid, or bone marrow) or recurrent bacterial infections (≥ 3) before the age of 3 years regardless of the site of infection. Both rheumatic and renal diseases are possibly caused by immune complex (IC)-associated mechanisms and are grouped here as IC-related diseases.

Thirty cases (81%) developed severe infections. Fifteen cases had histories of septic meningitis, 9 (60%) of which suffered from recurrent meningitis. Among a total of 34 episodes of meningitis,

Streptococcus pneumoniae and *Neisseria meningitidis* were detected from cerebrospinal fluids in 14 and 6 episodes, respectively. Eight cases had histories of bacteremia or sepsis, 4 (50%) of which suffered from 2 or more episodes of bacteremia. Among a total of 15 episodes of bacteremia or sepsis, *S pneumoniae* was identified in 12 episodes (80%) and the remaining microorganisms were *N meningitidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus milleri*. Twenty-four cases had recurrent respiratory tract infections and/or otitis media caused

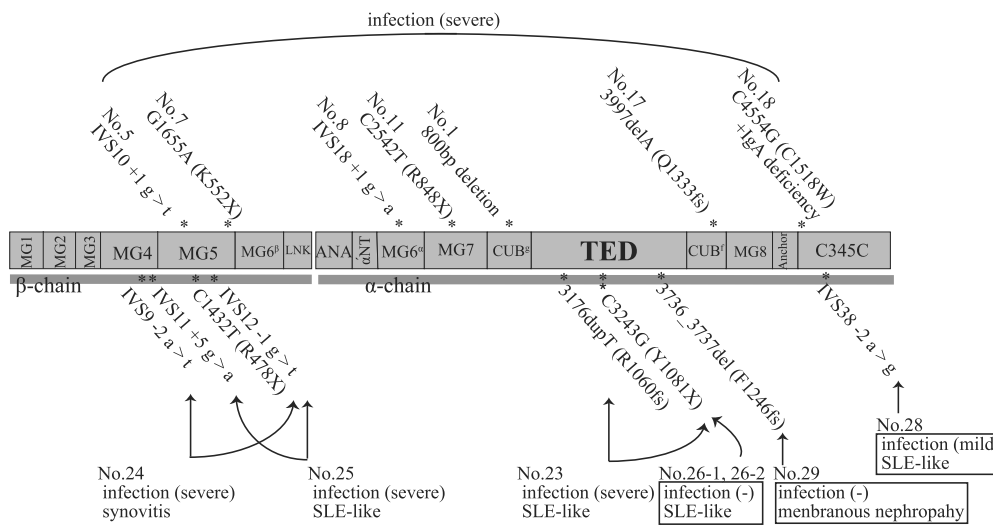


FIG 1. Severe infections preferentially develop in patients with C3 mutations in the N-terminal end of the TED domain. Domain arrangement of the C3 gene is shown. Both MG6 and CUB domains are formed by 2 separated parts, respectively. C3 mutations are indicated by asterisk marks. The mutations in Japanese and other ethnicities are shown in the lower and upper rows, respectively. The patient numbering follows that used in Table I.

by *S pneumoniae*, *Haemophilis influenzae*, *Klebsiella aerogenes*, *S aureus*, and *Streptococcus pyogenes*.

Rheumatic diseases were observed in 8 cases (22%): 6 cases from 5 families displayed systemic lupus erythematosus (SLE)-like illness, 1 case had subacute cutaneous lupus erythematosus, and 1 case had synovitis.⁶ Six cases were positive for antinuclear antibody at low titers (1:40~1:320). Three of the 8 cases with rheumatic diseases (38%) had no history of severe infections.

Renal diseases (hematuria and/or proteinuria) were observed in 8 cases (22%). Renal biopsies were performed in 5 cases, showing membranoproliferative glomerulonephritis type 1 (2 cases), mesangiopathic glomerulonephritis (1 case), IgA nephropathy (1 case), and membranous nephropathy (1 case). Two patients with SLE-like illness who were grouped as suffering from rheumatic diseases had focal segmental glomerulonephritis and membranous glomerulonephritis, respectively, despite normal urinary analysis. Three of the 8 cases with renal diseases (38%) had no history of severe infections.

The median age of onset of any symptoms related to C3 deficiency was 2.0 years (range, 3 weeks-19 years): severe infections at 1.5 years ranging from 3 weeks to 10 years and IC-related diseases at 7.5 years ranging from 1 to 25 years. The overall mean age of diagnosis was 9.2 ± 6.5 years (range, 10 months-26 years). The patients with severe infections were diagnosed at a younger age than were those with only IC-related diseases (8.3 ± 6.3 years vs 13.8 ± 6.4 years; $P = .061$).

Genetic analyses had been carried out in only 18 cases (16 families) including the present 4 cases (4 families). Among these cases, complete analyses of both alleles were performed in 14 cases (13 families). Three cases (21%) had compound heterozygous mutations, whereas the remainder (79%) had homozygous mutations. We found 15 mutations: 6 splicing abnormalities, 4 nonsense mutations, 2 with 1 or 2 base deletion, 1 large deletion, 1 with 1 base insertion, and 1 missense mutation. We analyzed the genotype-phenotype correlation in 14 cases (13 families) with completely defined C3 mutations. Fig 1 illustrates

the domains of C3 and mutations of genetically confirmed patients. In patients with severe infections, C3 mutations were located in the β-chain and upstream of the TED domain in the α-chain. However, patients without severe infections had C3 mutations that were concentrated in and downstream of the TED domain (Nos. 26-1, 26-2, 28, and 29). Given that all mutations except 1 missense mutation (No. 18) were predicted to result in frame-shift or premature termination of protein translation, the mutations of the N-terminal half of the gene may cause large truncations and, possibly, lack of C3 protein. Although the small number of genetically confirmed cases is a limitation in our study, our results raise the possibility that mutations of the nucleotides encoding the TED domain or downstream of it causes production of mutant C3, which is able to control infections but not IC-related diseases, despite being undetectable by the conventional assay system. To address this possibility, it is necessary to develop a novel quantitative and functional assay system of mutant C3 molecules.

In conclusion, the clinical features of C3 deficiency were a combination of severe infections mainly caused by *S pneumoniae* and *N meningitides* and/or IC-related diseases such as SLE-like illness or renal diseases. Patients with C3 mutations in the N-terminal half of the gene tend to be more susceptible to severe infections. The biological functions of the mutant C3 molecule remain to be elucidated.

We thank the families for participation in this study and all the clinicians who helped to manage the patients through the course of the disease.

Yuka Okura, MD, PhD^{a,b}
Ichiro Kobayashi, MD, PhD^a
Masafumi Yamada, MD, PhD^a
Satoshi Sasaki, MD, PhD^{a,c}
Yutaka Yamada, MD^c
Ichiro Kamioka, MD, PhD^d
Rie Kanai, MD, PhD^e
Yutaka Takahashi, MD, PhD^b
Tadashi Ariga, MD, PhD^a

From ^athe Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan; ^bthe Department of Pediatrics, KKR Sapporo Medical Center, Sapporo, Japan; ^cthe Department of Pediatrics, Hakodate Central General Hospital, Hakodate, Japan; ^dthe Department of Pediatrics, Kakogawa West City Hospital, Kakogawa, Japan; and ^ethe Department of Pediatrics, Shimane University Faculty of Medicine, Izumo, Japan. E-mail: okura@med.hokudai.ac.jp.

This work was supported in part by a grant for Research on Intractable Diseases from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare.

Disclosure of potential conflict of interest: The authors declare that they have no relevant conflicts of interest.

REFERENCES

1. Janssen BJ, Huizinga EG, Raaijmakers HC, Roos A, Daha MR, Nilsson-Ekdahl K, et al. Structures of complement component C3 provide insights into the function and evolution of immunity. *Nature* 2005;437:505-11.
2. Reis ES, Falcao DA, Isaac L. Clinical aspects and molecular basis of primary deficiencies of complement component C3 and its regulatory proteins factor I and factor H. *Scand J Immunol* 2006;63:155-68.
3. Fujioka H, Ariga T, Yoda M, Ohsaki M, Horiuchi K, Otsu M, et al. A case of C3 deficiency with a novel homozygous two-base deletion in the C3 gene. *Am J Med Genet A* 2005;138:399-400.
4. Kida M, Fujioka H, Kosaka Y, Hayashi K, Sakiyama Y, Ariga T. The first confirmed case with C3 deficiency caused by compound heterozygous mutations in the C3 gene: a new aspect of pathogenesis for C3 deficiency. *Blood Cells Mol Dis* 2008;40:410-3.
5. Okura Y, Yamada M, Takezaki S, Nawate M, Takahashi Y, Kida M, et al. Novel compound heterozygous mutations in the C3 gene: hereditary C3 deficiency. *Pediatr Int* 2011;53:e16-9.
6. Okura Y, Nawate M, Takahashi Y, Kobayashi I, Yamada M, Ariga T. Rheumatoid factor-positive synovitis in a patient with C3 deficiency. *Scand J Rheumatol* 2012; 41:405-6.

Available online October 4, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2015.08.017>

Efficacy of T-cell transcription factor-specific DNazymes in murine skin inflammation models



To the Editor:

Most current therapies for inflammatory skin diseases are mainly symptomatic and do not interfere with the underlying pathomechanisms. In addition, they are often accompanied by moderate to severe adverse effects. Therefore, there is an unmet medical need for efficient and well-tolerated therapies that target disease-specific mechanisms. The involvement of different subtypes of T_H cells in skin inflammation has been intensively investigated¹ and different T_H subtype-specific transcription factors have been identified. These molecules orchestrate the differentiation and activation of the respective T_H subtype and influence the development of other subtypes, thereby modulating the nature of the inflammatory immune response.²

We generated deoxyribozymes (DNazymes) directed against the central transcription factors of T_{H2}- and T_{H1}-cell differentiation and activation, namely, guanine adenine thymine adenine sequence-binding protein 3 (GATA-3) for T_{H2} and T-box transcription factor TBX21 protein (Tbet) for T_{H1} cells (see Table E1 in this article's Online Repository at www.jacionline.org). 10-23 DNazymes represent a particular class of antisense molecules combining the specificity of antisense molecules with an inherent catalytic activity that makes them an attractive tool for highly specific interference with disease-causing target molecules. They are single-stranded DNA molecules with 2

sequence-specific RNA-binding domains flanking a central catalytic domain that exerts RNA cleavage activity after appropriate binding (see Fig E1 in this article's Online Repository at www.jacionline.org).³ Targeting the transcription factors of disease-mediating T_H cells might be a versatile tool for therapeutic interventions in inflammatory skin diseases such as atopic dermatitis, allergic contact hypersensitivity, or psoriasis. Actually, efficacy of the GATA-3-specific DNzyme approach has been shown in mouse models of allergic airway inflammation⁴ and most recently in a phase IIa clinical trial in which inhalation of this compound resulted in significant abrogation of allergen-induced early- and late-phase allergic responses in patients with asthma.⁵

To investigate DNzyme efficacy in inflammatory skin conditions, different mouse models were established. An oxazolone-induced contact hypersensitivity mouse model was modified from standard acute hapten-induced contact hypersensitivity mouse models to establish prolonged skin swelling reactions compared with acute models, thereby enabling the analysis of treatment effects on T-cell-mediated pathomechanisms (see Fig E2 in this article's Online Repository at www.jacionline.org). Three days after epicutaneous sensitization with the hapten oxazolone, mice were challenged by epicutaneous oxazolone application, and the prominent skin swelling reaction induced as a result is accompanied by an influx of inflammatory cells into the dermis consisting of mononuclear cells, eosinophils, and neutrophils, indicating a mixed T_{H1}/T_{H2}-type inflammatory response and mild hyperkeratosis. Treatment with DNazymes formulated in a water-in-oil-in-water emulsion, specifically developed for penetration enhancement and DNzyme protection,^{6,7} was performed by topical application.

Prophylactic treatment with the GATA-3-specific DNzyme hgd40 significantly reduced oxazolone-induced skin swelling reactions compared with placebo and control DNzyme ODNg3 (Fig 1, A). Immunohistologic analysis of CD4⁺ T cells revealed significantly lowered cell numbers on hgd40 treatment in the dermis of oxazolone-induced mice (Fig 1, B). Target regulation was demonstrated by significantly reduced GATA-3 mRNA levels after topical application of hgd40 during the sensitization phase (Fig 1, C, and Table E2 in this article's Online Repository at www.jacionline.org). Inhibitory effects of hgd40 treatment on skin swelling reactions could also be detected after semi-therapeutic treatment starting a day before challenge in this model (Fig 1, D). These data are in line with the efficacy of inhaled hgd40 in mouse models of allergic airway inflammation,⁴ indicating favorable therapeutic effects of topically applied hgd40 irrespective of the target organ. Furthermore, human T_{H2}-polarized CD4⁺ T cells (see the Methods section and Tables E3 and E4 in this article's Online Repository at www.jacionline.org) were transfected with the GATA-3-specific DNzyme hgd40 (the corresponding mRNA sequence of which is 100% homologous between mouse and human). This resulted in a significant reduction in intracellular GATA-3 protein levels at 22 hours after transfection paralleled by a decreased release of the T_{H2} cytokine IL-13 compared with control DNzyme-transfected cells (Fig 1, E).

Because the oxazolone model induced a mixed T_{H1}/T_{H2} inflammatory phenotype based on T_{H2}- and T_{H1}-cell activities, potential effects of topical treatment with the mouse Tbet-specific

REFERENCES

- E1. Alper CA, Colten HR, Rosen FS, Rabson AR, Macnab GM, Gear JS. Homozygous deficiency of C3 in a patient with repeated infections. *Lancet* 1972;2:1179-81.
- E2. Alper CA, Colten HR, Gear JS, Rabson AR, Rosen FS. Homozygous human C3 deficiency: the role of C3 in antibody production, C-1s-induced vasopermeability, and cobra venom-induced passive hemolysis. *J Clin Invest* 1976;57:222-9.
- E3. Weiss RM, Schulz EJ. Complement deficiency in Sweet's syndrome. *Br J Dermatol* 1989;121:413-5.
- E4. Botto M, Fong KY, So AK, Barlow R, Routier R, Morley BJ, et al. Homozygous hereditary C3 deficiency due to a partial gene deletion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:4957-61.
- E5. Grace HJ, Brereton-Stiles GG, Vos GH, Schonland M. A family with partial and total deficiency of complement C3. *S Afr Med J* 1976;50:139-40.
- E6. Osofsky SG, Thompson BH, Lint TF, Gewurz H. Hereditary deficiency of the third component of complement in a child with fever, skin rash, and arthralgias: response to transfusion of whole blood. *J Pediatr* 1977;90:180-6.
- E7. Davis AE III, Davis JS, Rabson AR, Osofsky SG, Colten HR, Rosen FS, et al. Homozygous C3 deficiency: detection of C3 by radioimmunoassay. *Clin Immunol Immunopathol* 1977;8:543-50.
- E8. Hsieh KH, Lin CY, Lee TC. Complete absence of the third component of complement in a patient with repeated infections. *Clin Immunol Immunopathol* 1981;20:305-12.
- E9. Huang JL, Lin CY. A hereditary C3 deficiency due to aberrant splicing of exon 10. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;73:267-73.
- E10. Roord JJ, Daha M, Kuis W, Verbrugh HA, Verhoef J, Zegers BJ, et al. Inherited deficiency of the third component of complement associated with recurrent pyogenic infections, circulating immune complexes, and vasculitis in a Dutch family. *Pediatrics* 1983;71:81-7.
- E11. van Hess CL, Boom BW, Vermeer BJ, Daha MR. Subacute cutaneous lupus erythematosus in a patient with inherited deficiency of the third component of complement. *Arch Dermatol* 1992;128:700-1.
- E12. Grumach AS, Vilela MM, Gonzalez CH, Starobinas N, Pereira AB, Dias-da-Silva W, et al. Inherited C3 deficiency of the complement system. *Braz J Med Biol Res* 1988;21:247-57.
- E13. Reis ES, Baracho GV, Lima AS, Farah CS, Isaac L. Homozygous hereditary C3 deficiency due to a premature stop codon. *J Clin Immunol* 2002;22:321-30.
- E14. Botto M, Fong KY, So AK, Rudge A, Walport MJ. Molecular basis of hereditary C3 deficiency. *J Clin Invest* 1990;86:1158-63.
- E15. Peleg D, Harit-Bustan H, Katz Y, Peller S, Schlesinger M, Schonfeld S. Inherited C3 deficiency and meningococcal disease in a teenager. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11:401-4.
- E16. Singer L, Whitehead WT, Akama H, Katz Y, Fishelson Z, Wetsel RA. Inherited human complement C3 deficiency: an amino acid substitution in the beta-chain (ASP549 to ASN) impairs C3 secretion. *J Biol Chem* 1994;269:28494-9.
- E17. Katz Y, Wetsel RA, Schlesinger M, Fishelson Z. Compound heterozygous complement C3 deficiency. *Immunology* 1995;84:5-7.
- E18. Sanal O, Loos M, Ersoy F, Kanra G, Secmeer G, Tezcan I. Complement component deficiencies and infection: C5, C8 and C3 deficiencies in three families. *Eur J Pediatr* 1992;151:676-9.
- E19. Ulbrich AG, Florido MP, Nudelman V, Reis ES, Baracho GV, Isaac L. Hereditary human complement C3 deficiency owing to reduced levels of C3 mRNA. *Scand J Immunol* 2001;53:622-6.
- E20. Reis ES, Nudelman V, Isaac L. Nonsense-codon-mediated decay in human hereditary complement C3 deficiency. *Immunogenetics* 2004;55:667-73.
- E21. Totan M. Recurrent pneumococcal meningitis in homozygous C3 deficiency. *Indian J Pediatr* 2002;69:625-6.
- E22. Tuerlinckx D, Bodart E, de Bilderling G, Nisolle JF. Pneumococcal psoriasis pyomyositis associated with complement deficiency. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 23:371-3.
- E23. Bhide SS. Recurrent meningitis in a family with C3 deficiency. *Indian Pediatr* 2006;43:269-70.
- E24. Ghannam A, Pernollet M, Fauquert JL, Monnier N, Ponard D, Villiers MB, et al. Human C3 deficiency associated with impairments in dendritic cell differentiation, memory B cells, and regulatory T cells. *J Immunol* 2008;181: 5158-66.
- E25. Singh DK, Rai R. Recurrent meningitis secondary to isolated C3 deficiency. *Indian J Pediatr* 2009;76:95-6.
- E26. Goldberg M, Fremeaux-Bacchi V, Koch P, Fishelson Z, Katz Y. A novel mutation in the C3 gene and recurrent invasive pneumococcal infection: a clue for vaccine development. *Mol Immunol* 2011;48:1926-31.
- E27. Santos-Valente E, Reisli I, Artac H, Ott R, Sanal O, Boztug K. A novel mutation in the complement component 3 gene in a patient with selective IgA deficiency. *J Clin Immunol* 2013;33:127-33.
- E28. Ballou M, Shira JE, Harden L, Yang SY, Day NK. Complete absence of the third component of complement in man. *J Clin Invest* 1975;56:703-10.
- E29. Berger M, Balow JE, Wilson CB, Frank MM. Circulating immune complexes and glomerulonephritis in a patient with congenital absence of the third component of complement. *N Engl J Med* 1983;308:1009-12.
- E30. Pussell BA, Bourke E, Nayef M, Morris S, Peters DK. Complement deficiency and nephritis: a report of a family. *Lancet* 1980;1:675-7.
- E31. Borzy MS, Houghton D. Mixed-pattern immune deposit glomerulonephritis in a child with inherited deficiency of the third component of complement. *Am J Kidney Dis* 1985;5:54-9.
- E32. Borzy MS, Gewurz A, Wolff L, Houghton D, Lovrien E. Inherited C3 deficiency with recurrent infections and glomerulonephritis. *Am J Dis Child* 1988;142: 79-83.
- E33. Singer L, Van Hee ML, Lokki ML, Kramer J, Borzy MS, Wetsel RA. Inherited complement C3 deficiency: reduced C3 mRNA and protein levels in a Laotian kindred. *Clin Immunol Immunopathol* 1996;81:244-52.
- E34. Imai K, Nakajima K, Eguchi K, Miyazaki M, Endoh M, Tomino Y, et al. Homozygous C3 deficiency associated with IgA nephropathy. *Nephron* 1991; 59:148-52.
- E35. Hyodo Y, Kosuge K. Clinical characteristics of deficiency of the complement system in man. *Rinsho Meneki* 1981;13:23-35.
- E36. Kida M, Fujioka H, Kosaka Y, Hayashi K, Sakiyama Y, Ariga T. The first confirmed case with C3 deficiency caused by compound heterozygous mutations in the C3 gene: a new aspect of pathogenesis for C3 deficiency. *Blood Cells Mol Dis* 2008;40:410-3.
- E37. Okura Y, Yamada M, Takezaki S, Nawate M, Takahashi Y, Kida M, et al. Novel compound heterozygous mutations in the C3 gene: hereditary C3 deficiency. *Pediatr Int* 2011;53:e16-9.
- E38. Okura Y, Nawate M, Takahashi Y, Kobayashi I, Yamada M, Ariga T. Rheumatoid factor-positive synovitis in a patient with C3 deficiency. *Scand J Rheumatol* 2012; 41:405-6.
- E39. Sano Y, Nishimukai H, Kitamura H, Nagaki K, Inai S, Hamasaki Y, et al. Hereditary deficiency of the third component of complement in two sisters with systemic lupus erythematosus-like symptoms. *Arthritis Rheum* 1981;24: 1255-60.
- E40. Matsuyama W, Nakagawa M, Takashima H, Muranaga F, Sano Y, Osame M. Molecular analysis of hereditary deficiency of the third component of complement (C3) in two sisters. *Intern Med* 2001;40:1254-8.
- E41. Cozma G, Aburumeih S, Malik-Cozma MC, Johny KV. CAPD in a patient with complete absence of C3. *Clin Nephrol* 1987;27:269.
- E42. Tsukamoto H, Horiuchi T, Kokuba H, Nagae S, Nishizaka H, Sawabe T, et al. Molecular analysis of a novel hereditary C3 deficiency with systemic lupus erythematosus. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;330:298-304.
- E43. Fujioka H, Ariga T, Yoda M, Ohsaki M, Horiuchi K, Otsu M, et al. A case of C3 deficiency with a novel homozygous two-base deletion in the C3 gene. *Am J Med Genet A* 2005;138:399-400.

ORIGINAL ARTICLE

Novel heterozygous C243Y A20/ TNFAIP3 gene mutation is responsible for chronic inflammation in autosomal- dominant Behçet's disease

Tomonari Shigemura,¹ Naoe Kaneko,² Norimoto Kobayashi,¹ Keiko Kobayashi,³
Yusuke Takeuchi,¹ Naoko Nakano,² Junya Masumoto,² Kazunaga Agematsu³

To cite: Shigemura T, Kaneko N, Kobayashi N, *et al.* Novel heterozygous C243Y A20/TNFAIP3 gene mutation is responsible for chronic inflammation in autosomal-dominant Behçet's disease. *RMD Open* 2016;2:e000223. doi:10.1136/rmdopen-2015-000223

► Prepublication history for this paper is available online. To view these files please visit the journal online (<http://dx.doi.org/10.1136/rmdopen-2015-000223>).

Received 8 December 2015
Revised 2 March 2016
Accepted 12 April 2016



CrossMark

¹Department of Pediatrics, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan

²Department of Pathology, Ehime University Proteo-Science Center and Graduate School of Medicine, Ehime, Japan

³Department of Infection and Host Defense, Graduate School of Medicine, Shinshu University, Matsumoto, Japan

Correspondence to
Dr Kazunaga Agematsu;
nagematsu@nifty.com

ABSTRACT

Objective: Although Behçet's disease (BD) is a chronic inflammatory disorder of uncertain aetiology, the existence of familial BD with autosomal-dominant traits suggests that a responsibility gene (or genes) exists. We investigated a Japanese family with a history of BD to search for pathogenic mutations underlying the biological mechanisms of BD.

Methods: 6 patients over 4 generations who had suffered from frequent oral ulcers, genital ulcers and erythema nodosum-like lesions in the skin were assessed. Whole-exome sequencing was performed on genomic DNA, and cytokine production was determined from stimulated mononuclear cells. Inflammatory cytokine secretion and Nod2-mediated NF-κB activation were analysed using the transfected cells.

Results: By whole-exome sequencing, we identified a common heterozygous missense mutation in *A20/TNFAIP3*, a gene known to regulate NF-κB signalling, for which all affected family members carried a heterozygous C243Y mutation in the ovarian tumour domain. Mononuclear cells obtained from the proband and his mother produced large amounts of interleukin 1β, IL-6 and tumour necrosis factor α (TNF-α) on stimulation as compared with those from normal controls. Although inflammatory cytokine secretion was suppressed by wild-type transfected cells, it was suppressed to a much lesser extent by mutated C243Y *A20/TNFAIP3*-transfected cells. In addition, impaired suppression of Nod2-mediated NF-κB activation by C243Y *A20/TNFAIP3* was observed.

Conclusions: A C243Y mutation in *A20/TNFAIP3* was likely responsible for increased production of human inflammatory cytokines by reduced suppression of NF-κB activation, and may have accounted for the autosomal-dominant Mendelian mode of BD transmission in this family.

INTRODUCTION

Behçet's disease (BD) is a chronic inflammatory disorder of unknown aetiology,

Key messages

- Behçet's disease is a chronic inflammatory disorder of uncertain aetiology. Familial Behçet's disease inherited in an autosomal-dominant manner does exist, but the pathogenesis remains unknown.
- *A20/TNFAIP3* gene mutation reinforces inflammation in humans and causes autosomal-dominant Behçet's disease.
- Since *A20/TNFAIP3* regulates NF-κB signalling, we can explain the curative effect of glucocorticoids, which are potent inhibitors of NF-κB activation.

characterised by recurrent oral aphthous ulcers, genital ulcers, uveitis and erythema nodosum (EN)-like lesions on the skin.¹ Involvement of the gastrointestinal tract and central nervous system as a subtype can be life-threatening.¹ Earlier generational studies have proposed that some families inherit BD in an autosomal-dominant or recessive manner.²⁻⁴

Also referred to as tumour necrosis factor α-induced protein (TNFAIP) 3, A20 was first identified in endothelial cells as a primary response gene induced on tumour necrosis factor (TNF) stimulation.⁵⁻⁶ A20 was shown to be a ubiquitin-editing enzyme containing aminoterminal deubiquitinating activity mediated by its ovarian tumour (OTU) domain,⁷ which controlled NF-κB signalling by deubiquitinating receptor-interacting protein (RIP) 1, RIP2 and TNF receptor-associated factor (TRAF) 6.⁸⁻⁹ Multiple genetic studies have identified *A20/TNFAIP3* as a susceptibility locus in inflammatory disorders,¹⁰ including rheumatoid arthritis,¹¹ systemic lupus erythematosus, inflammatory bowel disease (IBD) and BD,¹²⁻¹³ in addition to multiple B cell lymphoma.¹⁴ A significantly increased prevalence of

TNFAIP3 polymorphisms has been reported in Chinese patients with BD.¹² However, the polymorphisms are not caused by a non-synonymous mutation; they are located in the non-coding region, and do not have an increased prevalence in the European population.¹³ Furthermore, the NF- κ B inhibitor A20 is a ubiquitin-modifying enzyme that might be critical in regulating human inflammatory diseases by inhibiting interleukin 1 β synthesis,¹⁵ and reduced expression was associated with IBD and other kinds of spontaneous chronic inflammation in a murine system.¹⁶ Interestingly enough, myeloid-specific A20-deficiency in mice results in spontaneous development of a severe destructive rheumatoid arthritis,¹⁷ which crucially relies on the NLRP3 inflammasome-mediated caspase and IL-1 β secretion.¹⁸ Most recently, Zhou *et al*¹⁹ reported six unrelated families with early-onset systemic inflammation resembling BD, which is caused by high-penetrance heterozygous mutation in *A20/TNFAIP3*.

In the present study, we employed whole-exome sequencing, analysis of inflammatory cytokine production in mononuclear cells and transfected cells, and luciferase reporter assays, to search for pathogenic mutations in a family with apparently autosomal-dominantly transmitted BD.

PATIENTS AND METHODS

Patients and family history

The proband (patient 1) was a 17-year-old Japanese boy who was referred to our hospital with a 5-month history of recurrent painful oral ulcers accompanied by fever, in November 2014. Oral ulcer with fever occurred once every 1–2 weeks, each time lasting for 1–2 weeks. The patient had suffered from frequent oral ulcers from the age of 9 years. He also had a 1-month history of unknown fever when 13 years of age and nephrotic syndrome 2 years later. Since the nephrotic syndrome had relapsed five times after discontinuation of steroid treatment, he was being treated with cyclosporine (175 mg/day) and mizoribine (250 mg/day) as maintenance therapy. Physical examination revealed painful oral ulcers, EN-like lesions on lower extremities, pseudofolliculitis on the trunk and a large painful ulcerative lesion in the perianal area. Laboratory examination revealed white cell counts 9470/ μ L, neutrophil rate 90.7%, haemoglobin 13.3 g/dL and C reactive protein 0.27 mg/dL (normal <0.1 mg/dL). Serum concentrations of IgG, IgA, IgM and IgD were 1623 mg/dL, 574 mg/dL, 104 mg/dL and 1.3 mg/dL, respectively. Although tests for autoantibodies and HLA-B51 were negative, a skin pathology examination was positive. A clinical diagnosis of BD was made based on the International Study Group Criteria for BD (criteria for the diagnosis of BD).²⁰ The oral ulcers were refractory to colchicine (1.5 mg/day), but responded promptly to the addition of low doses of prednisolone (15 mg/day).

Including this patient, six patients with BD have existed over four generations in the proband's family

(figure 1). Patient 2, the 43-year-old mother of the proband, had also suffered from recurrent oral ulcers from the age of 8 years. She had been diagnosed as having BD due to recurrent oral and genital ulcers, EN-like lesions and pseudofolliculitis when she was 20 years of age. Colchicine treatment was unsuccessful. At 28 years of age, entero-BD was diagnosed based on gastrointestinal symptoms and endoscopic findings of intestinal ulcers, and responded to prednisolone (45 mg/day) and was thereafter controlled by low-dose steroids. Patient 3, the 71-year-old grandmother of the proband, had suffered from recurrent oral ulcers from the age of 8 years. Oral and genital ulcers, EN-like lesions and pseudofolliculitis with fever manifested frequently, but were resolved by low-dose glucocorticoids. Patient 4, a 42-year-old maternal aunt of the proband, had experienced oral ulcer from the age of 10 years. She had been diagnosed as having BD based on recurrent oral and genital ulcers, EN-like lesions and pseudofolliculitis, which responded poorly to a single dose of colchicine. Patient 5, an 18-year-old maternal female cousin of the proband, had experienced recurrent episodes of self-resolving oral and genital ulcers, EN-like lesions and pseudofolliculitis, since the age of 12 years. Patient 6, the proband's maternal great-grandmother, had died at 88 years of age. She had also suffered from recurrent oral and genital ulcers, and indurated erythema accompanied by fever, from elementary school age, in spite of colchicine treatment. A history of genital ulcers could not be ascertained. None of the patients had exhibited ocular lesions of BD.

Apart from IL-1 β and TNF- α (both <10 pg/mL), serum inflammatory cytokine levels were increased in the proband at presentation (IL-6: 134.1 pg/mL, IL-8: 83.1 pg/mL, IL-10: 12.1 pg/mL, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF): 184.8 pg/mL and interferon γ : 22.2 pg/mL), but became persistently normal following the administration of glucocorticoids.

Whole-exome sequencing

Whole-exome sequencing was conducted on genomic DNA extracted from mononuclear cells from the proband (patient 1) and his mother (patient 2) (Takara Bio Inc, Mie, Japan). We prepared DNA libraries from 2.0 μ g of genomic DNA, using a Paired-End DNA Sample Preparation Kit (Illumina, San Diego, California, USA). DNA was fragmented using Covaris technology, and libraries were prepared. We performed target enrichment, using a SureSelect Human All Exon V5 Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). Captured DNA libraries were amplified using supplied paired-end PCR primers. Sequencing was performed with an Illumina HiSeq 2500. We mapped the provided read sequences using BWA-MEN (0.7.10-r789). Alignment with the Genome Reference Consortium human reference 37 was performed with GeneData Expressionist software.

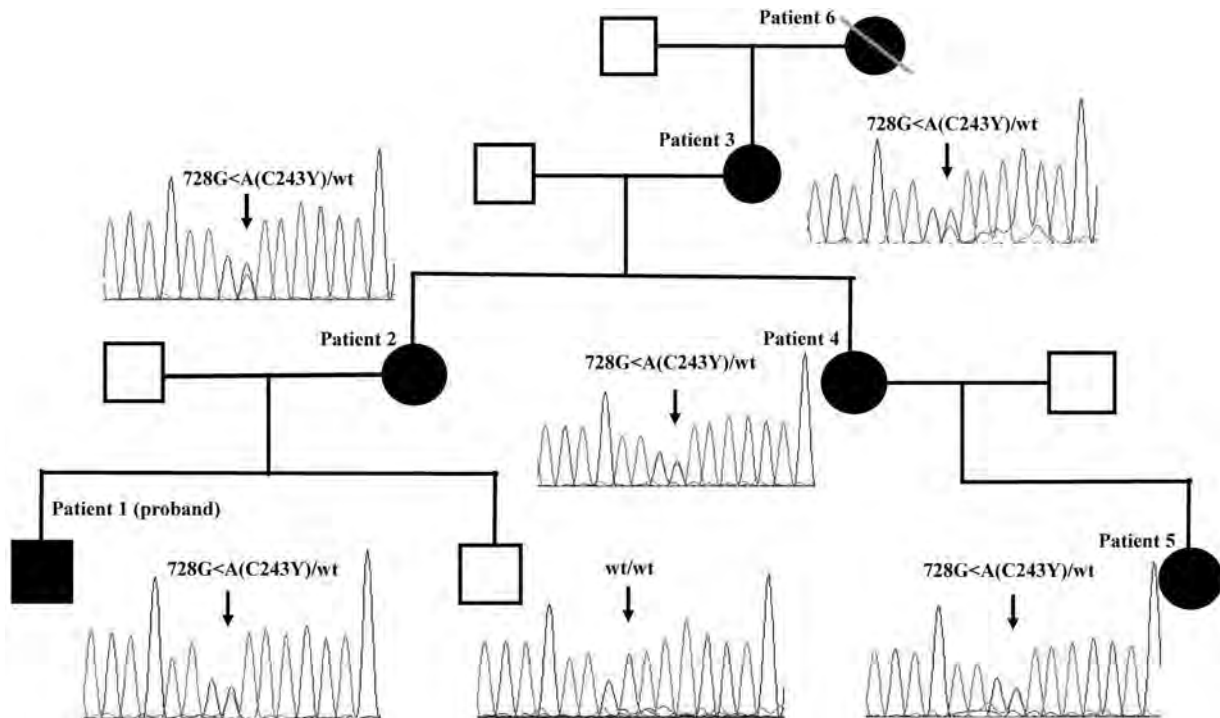


Figure 1 Family tree and *A20/TNFAIP3* mutations. Sequence analysis of the *A20/TNFAIP3* gene among the proband and family members revealed a heterozygous mutation of C243Y in exon 5, which was absent in the healthy younger brother. Sequence analysis was not possible on patient 6. Sequence analysis results are shown using reverse primer.

Mutation analysis

Heparinised blood from all affected members, apart from patient 6, as well as from the proband's healthy younger brother, was collected for genetic analysis, after obtaining informed consent. DNA was extracted from the samples, using standard methods. Direct sequencing of the *A20/TNFAIP3* gene was performed using primers, as reported previously.²¹

Cytokine assay by mononuclear cells

Purified mononuclear cells were incubated in 96-well culture plates ($0.5\text{--}1 \times 10^5$ cells/well) with medium alone, indicated concentrations of LPS (Sigma-Aldrich, St Louis, Missouri, USA), 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of poly (I:C) (InvivoGen, San Diego, California, USA), 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ of CpG complementary DNA (cDNA), or 10 ng/mL of N-acetylmuramyl-L-alanyl-D-isoglutamine (muramyl dipeptide (MDP); Sigma-Aldrich) cultured for 18–48 h. The CpG oligodeoxynucleotide 2006 was purchased from Sigma-Aldrich. Supernatants were analysed for cytokine production, using cytometric bead array (CBA) Kits (BD Biosciences, San Diego, California, USA). Serum cytokine concentrations were additionally assayed by CBA Flex Set (BD Biosciences).

Measurement of cytokine secretion from THP-1 cells

Expression plasmids encoding C243Y or wild-type (WT) A20 were constructed, as reported previously.²² Monocytic leukaemia THP-1 cells were cultured in RPMI 1640 (Life Technologies, Carlsbad, California, USA),

10% heat inactivated fetal bovine serum (FBS), penicillin and streptomycin. An Amaxa Nucleofector (Amaxa, Cologne, Germany) was used to transfect 1×10^6 cells with 1 μg of pcDNA3, pcDNA3-A20, or pcDNA3.1-C243Y A20 together with 100 ng of pGL4.74[*hRluc*/TK] (Promega, Madison, Wisconsin, USA), as described by the manufacturer's protocol. In some experiments, 1 and 100 ng/mL LPS (Sigma-Aldrich) were employed to treat the THP-1 cells. Eight hours after medium replacement, the concentrations of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α in culture supernatants were measured by ELISA (BD Biosciences). Final concentrations were calculated by normalisation with the activity of the Renilla cotransfected reporter vector (pGL4.74[*hRluc*/TK]).

NF- κ B assay

Human embryonic kidney (HEK) 293T cells were maintained in DMEM (Gibco) with 10% heat inactivated FBS, penicillin and streptomycin. Transfection was carried out with transfection reagent (Roche, Mannheim, Germany). 1×10^5 HEK293T cells were cotransfected with expression plasmids in the presence of 0.03 or 0.3 μg of reporter plasmids (pcDNA3, pcDNA3-A20 or pcDNA3.1-C243Y A20), 33 ng of pcDNA3-Nod2-Flag and 33 ng of pcDNA3-RICK-myc together with 8.3 ng NF- κ B-dependent pBxVI-luc reporter and 8.3 ng of pGL4.74[*hRluc*/TK]. NF- κ B luciferase reporter activity was measured 24 h post-transfection and values were normalised to those of firefly luciferase to Renilla luciferase activity.

Detection of NLRP3 transcripts

Total RNA was extracted from 2×10^6 mononuclear cells obtained from patient 1, normal individuals and THP-1 cells transfected expression plasmids encoding C243Y or WT A20 with or without 1 ng/ml of lipopolysaccharide (LPS) stimulation, with a TRIzol rapid RNA purification kit (Life Technologies, Grand Island, New York, USA). First-strand cDNA copies were synthesised using SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, California, USA) with oligo (dT) (Invitrogen, San Diego, California, USA) as the primer in a total volume of 20 μ L. The following oligonucleotide primers were used: for β 2-microglobulin (β 2-MG), 5'-ACCCCC ACTGAAAAGA-3' and 5'-CTCCTAGAGCTACCTGT GGAGCA-3', and for NLRP3, 5'-GCCACGCTAATGAT CGAC-3' and 5'-TGCACAGGCTCAGAAATGCTC-3' sense and antisense, respectively. A quantity of 2 μ L cDNA was amplified using each primer and Taq DNA polymerase by 35 cycles of the following steps: denaturation (94°C, 30 s), annealing (57°C, 30 s) and elongation (72°C, 60 s). The final polymerisation step was extended for another 5 min. The amplified products were analysed on a 1.2% agarose gel and visualised by ultraviolet light illumination. The relative integrated optical density of the messenger RNA (mRNA) bands was estimated with image processing and analysis in Java.

RESULTS

Heterozygous C243Y mutation of A20/TNFAIP3 in patients with autosomal-dominant BD

Whole-exome sequencing was performed on a Japanese boy (patient 1) born to non-consanguineous parents, and on his mother (patient 2) (figure 1). The analysed variants were then filtered. Given the family history, we sought for defects with autosomal-dominant inheritance. The first filter, therefore, selected mutations present in a common heterozygous state between patients 1 and 2 in non-synonymous coding, identifying an initial pool of 1311 variants. The second filter selected a frequency of mutated nucleic acid between 0.4 and 0.6. Since we considered that the gene variants had an extremely high penetration rate, we assumed that the frequency of normal individuals carrying the pathogenic mutation was extremely low levels. Thus, we then focused on variants with <0.1% frequency in the Japanese allele frequency data (HGVD Release V.1.42: <http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) and East Asia allele frequency data (ExAC release V.0.3: ftp://ftp.broadinstitute.org/pub/ExAC_release0.3/ExAC.r0.3.sites.vcf.gz). This resulted in a final set of 43 variants of 32 different genes. *TNFAIP3*, CASP8-associated protein (*CASP8AP2*) and Wnt inhibitory factor 1 precursor (*WIFI1*) were the only genes from this set known to be related to inflammation. We focused on the mutation of *TNFAIP3*, also known as *A20*, on chromosome 6, because *A20/TNFAIP3* gene analysis data in multiple genetic studies, functional analyses and the results of

knockout mice, have been extremely similar to those in BD pathogenesis.^{16 18 21–23} Sequence analysis of the coding and non-coding exons of *A20/TNFAIP3* revealed the presence of a heterozygous C243Y mutation (728 G>A) in exon 5 in addition to three nucleotide deletions in an intron of upper exon 3 in the proband. The deletion was not found in the mother (patient 2), suggesting that they were paternally derived (not investigated). Meanwhile, the heterozygous C243Y mutation was present in all familial patients with BD examined, but absent in the healthy sibling and 64 unrelated normal controls of the same Japanese ethnicity. The identified C243Y mutation has been documented in neither the 1000 Genomes project data set (<http://www.1000genomes.org>) nor in the Exome Variant Server data base (<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>). Thus, the (chr6_138197226_G>A, C243Y) mutation of *TNFAIP3* was suspected to be the gene responsible for autosomal-dominant BD.

Hyperproduction of inflammatory cytokines

Duong *et al*¹⁵ reported that bone marrow-derived macrophages from *tnfaip3*^{-/-} mice secreted IL-1 β in response to toll-like receptor (TLR) ligands, LPS, or poly (I:C), but those from WT mice exposed to TLR ligands alone did not do so. Similarly to those from the *tnfaip3*^{-/-} mice, the mononuclear cells obtained from patient 1 produced large amounts of IL-1 β , IL-6 and TNF- α on LPS at various concentrations as compared with normal controls, although little difference was seen for IL-8 (figure 2A). Spontaneous production of these inflammatory cytokines was not observed with medium alone (figure 2A). Mononuclear cells obtained from patient 2 also produced remarkable amounts of IL-1 β , IL-6 and TNF- α with LPS, MDP, or poly (I:C), but not with CpG DNA or TNF- α (data not shown), as compared with her son with neither BD symptoms nor *A20/TNFAIP3* mutation (figure 2B). No marked differences were noted for IL-8 (Figure 2B). Thus, hyperproduction of inflammatory cytokines was observed in the patients.

Inflammatory cytokine secretion from THP-1 cells was suppressed by WT A20 but suppressed to a lesser extent by mutated C243Y A20

To confirm that the mutated *A20/TNFAIP3* was responsible for the hyperproduction of inflammatory cytokines, we ectopically expressed the mutant and WT forms of *A20/TNFAIP3* in THP-1 cells that had been transfected with pcDNA3.1, pcDNA3.1-WT A20, or pcDNA3.1-C243Y A20, together with pGL4.74 [hRluc/TK]. Transfection efficiency was normalised using Renilla luciferase activity. In THP-1 cells transfected with pcDNA3.1-WT A20, IL-1 β secretion was significantly suppressed, IL-6 was suppressed in the presence of 100 ng/mL LPS and TNF- α was suppressed in the presence of 1 ng/mL LPS, but less so with regard to IL-8. Compared with the remarkable reduction in cytokine secretion from THP-1 cells by pcDNA 3.1-WT A20 transfection, IL-1 β , IL-6 and TNF- α

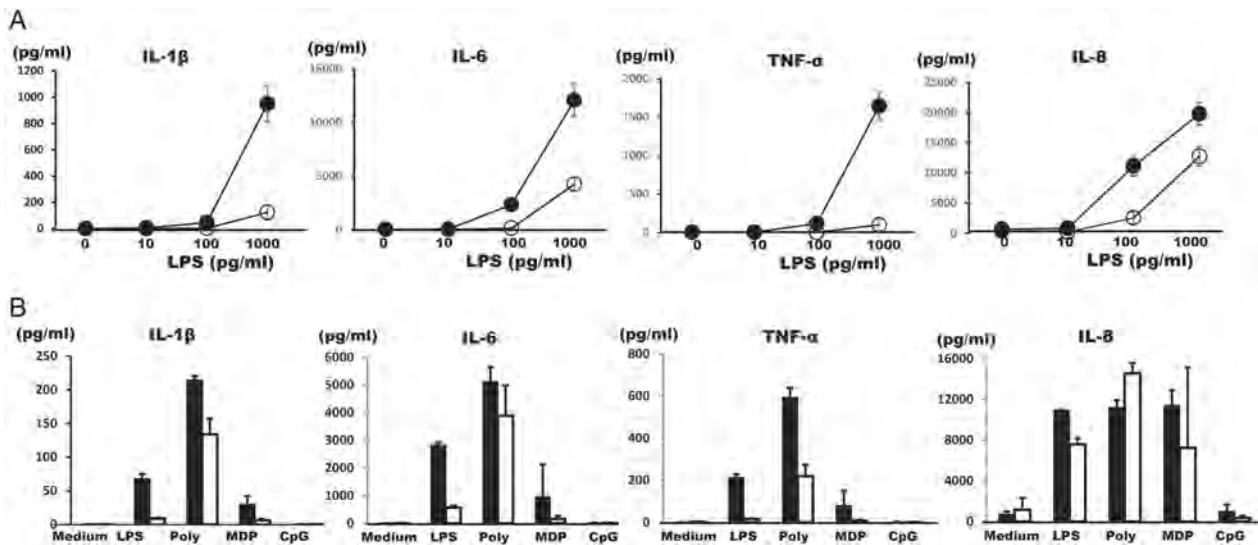


Figure 2 Cytokine synthesis from mononuclear cells. (A) Mononuclear cells obtained from patient 1 (●) and healthy control (○) were cultured with the indicated concentrations of LPS for 24 h, after which supernatant cytokine concentrations were measured using CBA kits. The results of triplicate experiments are shown as mean±SD. One representative result of three independent experiments is shown. (B) Production of IL-1β, IL-6, TNF-α and IL-8 by mononuclear cells obtained from patient 2 (■) and the healthy younger brother of the proband (□). Mononuclear cells were cultured with medium alone, LPS (100 pg/mL), poly (I:C) (25 μg/mL), MDP (10 ng/mL), or CpG DNA (1 μg/mL) for 24 h. Cytokine concentrations in culture supernatants were measured using CBA kits. The results of triplicate experiments were expressed as mean±SD. The data shown are representative of two independent experiments with different healthy controls, and one representative result is shown. CBA, cytometric bead array; IL-1β, interleukin 1β; LPS, lipopolysaccharide; MDP, muramyl dipeptide; TNF-α, tumour necrosis factor α.

secretions were markedly much less suppressed by pcDNA 3.1-C243Y A20 transfected THP-1 cells at specific concentrations of LPS (figure 3A). These data indicated that the restraint of inflammatory cytokine secretion by A20 carrying the C243Y mutation was attenuated in comparison with that by WT A20.

Diminished suppression of Nod2-mediated NF-κB activation by C243Y A20, and the effect on NLRP3 expression

A20 is a negative regulator of the inflammatory response,²⁴ and downregulates Nod signalling by deubiquitination of RIP2.⁸ To assess if mutated A20 affects Nod2-mediated NF-κB activation through RIP2, WT or C243Y A20 was coexpressed in HEK293T cells with pBxVI-luc, pGL4.74 [hRluc/TK], pcDNA3-Nod2-Flag and pcDNA3-RIP2-myc, and NF-κB luciferase reporter activity was measured and the values were normalised to those of firefly luciferase to Renilla luciferase activity. Notably, A20 completely abolishes NF-κB signalling via Nod2 with only a small amount (33 ng), while the suppression of NF-κB activation by C243Y A20 was approximately two-thirds that of intact A20 and, therefore, a small amount. Interestingly, transfection with a large amount of C243Y A20 (333 ng) completely attenuated NF-κB signalling (figure 3B). This finding indicates that the A20 variant possessing the C243Y mutation should be regarded as a variant that does not cause complete loss of function, but, rather, causes weak function.

Recent studies in mouse macrophages lacking A20 suggest that A20 negatively regulates NLRP3 inflammasome signalling by suppressing production of NLRP3,¹⁸ and most recently demonstrated the same results in human.¹⁹ We therefore investigated NLRP3 transcripts in patient or THP-1 cells transfected with the C243Y A20 mutant. NLRP3 transcripts were recognised in the patient's mononuclear cells and THP-1 cells without stimulation. On stimulation, the patient's mononuclear cells did not display a remarkable increased expression of NLRP3 mRNA, but THP-1 cells transfected with the C243Y A20 displayed increase of the transcript (figure 3C).

DISCUSSION

This study revealed that affected individuals—over four generations—of Japanese familial BD inherited in an autosomal-dominant manner carried a heterozygous C243Y mutation in the OTU domain of *A20/TNFAIP3*, which has been shown to regulate NF-κB signalling. Patient 1's mononuclear cells produced large amounts of inflammatory cytokines on stimulation, and the C243Y mutant of *A20/TNFAIP3* attenuated the suppression of inflammatory cytokine syntheses by reduced suppression of NF-κB activation.

Patients 1 and 2 exhibited a very good response to glucocorticoid treatment in comparison with other cases of BD without dominantly inherited traits, although this may have been reflective of their poor response to colchicine. The elevated serum inflammatory cytokines in

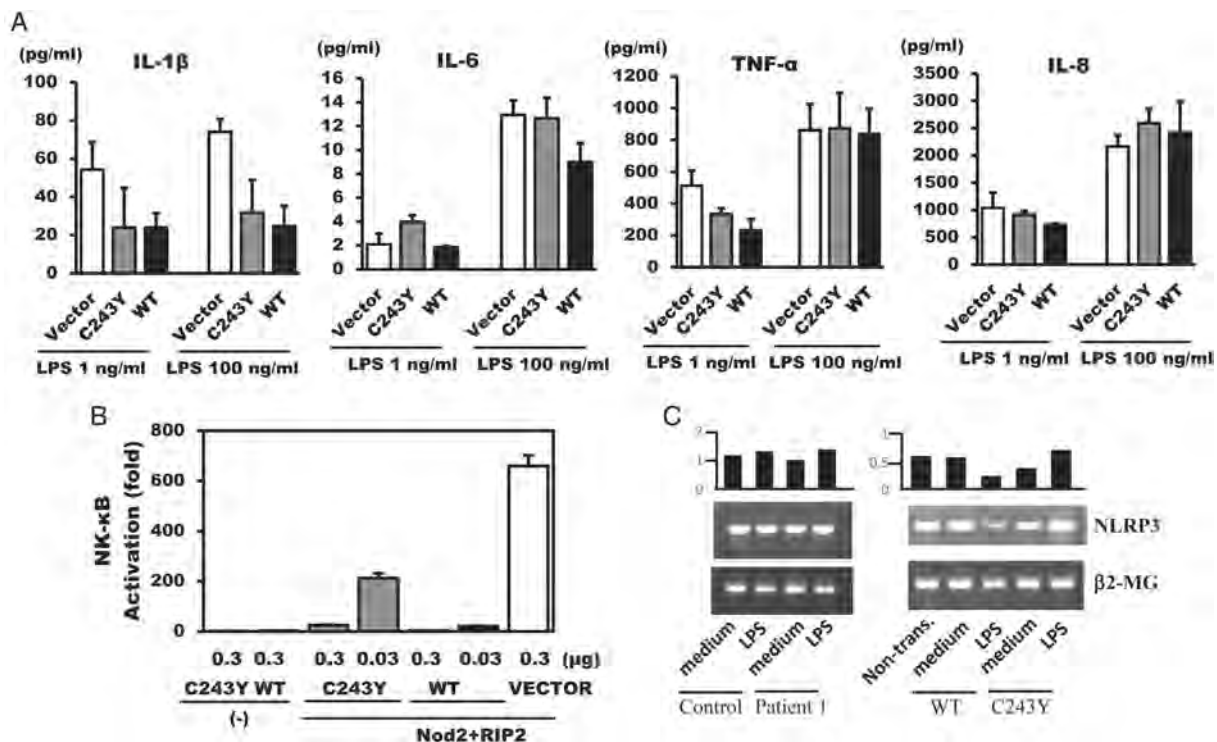


Figure 3 Inflammatory cytokine secretion from THP-1 cells, luciferase reporter assay of Nod2-mediated NF- κ B activation and NLRP3 expression. (A) THP-1 cells were transfected with vector control (\square), pcDNA3.1-C243Y A20 (\blacksquare), or pcDNA3.1-WT A20 (\blacksquare) expression plasmids together with pGL4.74 [hRluc/TK]. Eight hours after LPS stimulation, the concentrations of IL-1 β , IL-6, IL-8 and TNF- α in the culture supernatants were measured using ELISA. One representative result of two independent experiments is shown. (B) HEK293T cells were cotransfected with vector control (\square), pcDNA3.1-C243Y A20 (\blacksquare), or pcDNA3.1-WT A20 (\blacksquare) expression plasmids together with pcDNA3-Nod2-Flag, pcDNA3-RICK-Myc, NF- κ B-dependent pBxVI-luc reporter and pGL4.74[hRluc/TK]. NF- κ B luciferase reporter activity was measured 24 h post-transfection. One representative result of two independent experiments is shown. Transfection efficiency of THP-1 cells (A) or HEK293T (B) were normalised using Renilla luciferase activity generated by cotransfection of pGL4.74[hRluc/TK]. (C) Total RNA was extracted from patient 1, normal individuals and THP-1 cells transfected by C243Y or WT A20 with or without LPS stimulation, after 8 h incubation. The mRNA expression of NLRP3 was determined using RT-PCR analysis with β 2-MG as a control. The same results were obtained with 14 h incubation. The hold induction based on β 2-MG (NLRP3/ β 2-MG) is shown on each upper band. β 2-MG, β 2-microglobulin; HEK293T, human embryonic kidney 293T; IL-1 β , interleukin 1 β ; LPS, lipopolysaccharide; RIP2, receptor-interacting protein 2; TNF- α , tumour necrosis factor α ; WT, wild-type.

the proband at presentation became persistently normal soon after the administration of low-dose prednisolone. Since glucocorticoids are potent inhibitors of NF- κ B activation via induction of the κ B α inhibitory protein,²⁵ it appears that gene alteration in this autosomal-dominant form of BD is associated with a NF- κ B pathway. BD closely resembles Blau syndrome/early-onset sarcoidosis, which are Nod2 gene-associated chronic autoinflammatory diseases characterised by skin rash, arthritis and/or eye involvement, with non-caseating granulomata as their pathological hallmark.²⁶ The granulomatous formation present in BD and Blau syndrome may be associated with increased Nod1-mediated/Nod2-mediated NF- κ B signalling.^{23 27}

We focused on the *A20/TNFAIP3* gene in this autosomal-dominantly transmitted BD family, on the basis of whole-exome sequencing data, *A20/TNFAIP3* mutation analysis of the family members, functional analyses with transfectants and similarities with knockout mice

data.^{12 15 16} A20 is an ubiquitin-editing enzyme containing aminoterminal deubiquitinating activity mediated by its OTU domain that removes Lys63-linked ubiquitin chains from RIP1/RIP2.⁷ As the C243Y mutation was within the OTU domain, A20-mediated inhibition by removal of Lys63-linked polyubiquitin chains from TRAF6 or RIP1/RIP2 may have been causative in this family's BD. These observations were comparable to those of knockout mice with an A20 deficiency that displayed highly secretion of IL-1 β after stimulation with LPS or poly (I:C).¹⁵ Most recently, Zhou *et al*¹⁹ reported that heterozygous mutations of *A20/TNFAIP3* were involved in early-onset autoinflammatory disease. Similar to our report, the disease resembled BD manifestations and all dominant mutations were located in OTU domains (one case possessed de novo mutation in zinc finger domain) (figure 4). The families with BD-like manifestations, described by Zhou *et al*, were of European or Turkish origin. Our family's is the first

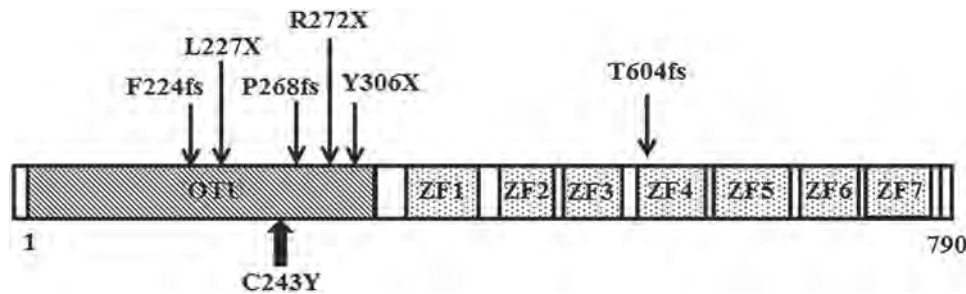


Figure 4 (A) Domain structure of A20. The N-terminal ovarian tumour (OTU) domain is essential for deubiquitinase activity and C-terminal zinc finger (ZF1-7) domains mediate E3 ubiquitin-ligase activity. The location of the present mutation is represented with a bold up arrow and recently published mutations are indicated with down arrows.

report of an *A20/TNFAIP3* gene mutation in BD-like symptoms in patients of Asian ancestry. They also clearly demonstrated increased NF- κ B activation, increased expression of proinflammatory cytokines and defective removal of Lys63-linked ubiquitin from TRAF6, NEMO and RIP1 in *A20/TNFAIP3* mutated cells. We also found attenuation of the suppression of RIP2-mediated NF- κ B signalling.

We observed elevated levels of inflammatory cytokine synthesis in stimulated cells expressing A20 C243Y as compared with WT (figure 3A). In this experiment, it is important to assess the amount of exogenous A20 provided compared with that of endogenous A20, which presents normally in THP-1 cells. In our transfection system, transfection efficiency was normalised using Renilla luciferase activity. Therefore, we think that the exogenous amount of WT A20 and C243Y A20 is equal after transfection. We guess that the limited difference seen in figure 3A probably arises by the effect of additional WT A20. Since the polyubiquitination of RIP2 was essential for Nod1-mediated/Nod2-mediated NF- κ B activation,⁸ we assessed the ability of mutant A20 C243Y proteins to suppress NF- κ B, and found that the variant influenced Nod2-induced NF- κ B activation. Considering the results of the luciferase reporter assay, it was interesting that A20 C243Y did not suppress Nod2-induced NF- κ B activation completely, as did the WT, but, rather, acted in an apparently dose-dependent manner, indicating that this variant did not cause a complete loss of suppressive function. In contrast to Zhou *et al*'s¹⁹ reported *A20/TNFAIP3* mutations (nonsense or frameshift), C243Y might cause weaker loss-of-function. Myeloid-specific A20-deficient mice results show spontaneous development of severe destructive rheumatoid arthritis,¹⁷ which crucially relies on NLRP3 inflammasome-mediated caspase and IL-1 β secretion.¹⁸ In our experiment, we could not confirm the enhanced NLRP3 mRNA, but could confirm elevated NLRP3 mRNA levels in C243Y A20 THP-1 cells on stimulation (figure 3C), in patient 1. The discrepancy in NLRP3 inflammasome activity in patients may depend on the individual variation. Given that NF- κ B signalling cascades are strictly controlled by several proteins with ubiquitination, and that A20 modulates these processes, the

slightly diminished impairment in suppressive function by C243Y may be responsible for persistent inflammation, and could lead to the development of BD.

In conclusion, genetic and functional analysis of familial BD disclosed that a heterozygous C243Y mutation in the OTU domain of *A20/TNFAIP3* was responsible for the autosomal-dominant inheritance of BD in this Japanese family. The possibility to develop dominantly inherited BD by mutated *A20/TNFAIP3*, which controls NF- κ B, supports the view that, at least, dominantly inherited BD can be regarded as an autoinflammatory syndrome.²⁸ The accumulation of more family sets of BD cases and further molecular biological analysis of participation of polyubiquitination may shed light on the pathogenesis of autosomal-dominant BD and provide new clues on the mutation responsible for general BD.

Acknowledgements The authors thank K Futagami, and D Tsuchiya for their help with gene analysis. They also thank Dr K Aya (Takara Bio Inc) for the support in whole-exome sequencing.

Contributors TS performed analyses of the whole-exome sequencing and of the patients. JM and KA conceived and designed the experiments, analysed the data and prepared the manuscript. Plasmid construction was prepared by Norimoto Kobayashi, cytokine assay by KK and analysis using mutated A20 was performed by Naoe Kaneko and NN. YT performed RT-PCR.

Funding This work was supported by a Health Labour Sciences Research Grant entitled 'Translational research toward the clarification of autoinflammatory mechanisms by familial Mediterranean fever (FMF) inflammasomes based on the Mediterranean fever (*MEFV*) gene analysis (15ek0109033h0002)'.

Competing interests None declared.

Patient consent Obtained.

Ethics approval The *MEFV* and related gene analyses as well as cytokine assay were approved by the institutional review board of Shinshu University (authorisation number 447 and 476).

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data sharing statement No additional data are available.

Open Access This is an Open Access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

REFERENCES

- Sakane T, Takeno M, Suzuki N, *et al.* Behçet's disease. *N Engl J Med* 1999;341:1284–91.
- Berman L, Trappier B, Jenkins T. Behçet's syndrome: a family study and the elucidation of a genetic role. *Ann Rheum Dis* 1979;38:118–21.
- Molinari N, Koné Paut I, Manna R, *et al.* Identification of an autosomal recessive mode of inheritance in paediatric Behçet's families by segregation analysis. *Am J Med Genet A* 2003;122A:115–18.
- Bird Stewart JA. Genetic analysis of families of patients with Behçet's syndrome: data incompatible with autosomal recessive inheritance. *Ann Rheum Dis* 1986;45:265–8.
- Dixit VM, Green S, Sarma V, *et al.* Tumor necrosis factor- α induction of novel gene products in human endothelial cells including a macrophage-specific chemotaxin. *J Biol Chem* 1990;265:2973–8.
- Opipari AW Jr, Boguski MS, Dixit VM. The A20 cDNA induced by tumor necrosis factor α encodes a novel type of zinc finger protein. *J Biol Chem* 1990;265:14705–8.
- Wertz IE, O'Rourke KM, Zhou H, *et al.* De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF- κ B signalling. *Nature* 2004;430:694–9.
- Hasegawa M, Fujimoto Y, Lucas PC, *et al.* A critical role of RICK/RIP2 polyubiquitination in Nod-induced NF- κ B activation. *EMBO J* 2008;27:373–83.
- Catrysse L, Vereecke L, Beyaert R, *et al.* A20 in inflammation and autoimmunity. *Trends Immunol* 2014;35:22–31.
- Ma A, Malynn BA. A20: linking a complex regulator of ubiquitylation to immunity and human disease. *Nat Rev Immunol* 2012;12:774–85.
- Shimane K, Kochi Y, Horita T, *et al.* The association of a nonsynonymous single-nucleotide polymorphism in TNFAIP3 with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Arthritis Rheum* 2010;62:574–9.
- Li H, Liu Q, Hou S, *et al.* TNFAIP3 gene polymorphisms confer risk for Behçet's disease in a Chinese Han population. *Hum Genet* 2013;132:293–300.
- Ortiz-Fernandez L, Garcia-Lozano JR, Montes-Cano MA, *et al.* Lack of association of TNFAIP3 and JAK1 with Behçet's disease in the European population. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33(Suppl 94):S36–9.
- Novak U, Rinaldi A, Kwee I, *et al.* The NF- κ B negative regulator TNFAIP3 (A20) is inactivated by somatic mutations and genomic deletions in marginal zone lymphomas. *Blood* 2009;113:4918–21.
- Duong BH, Onizawa M, Oses-Prieto JA, *et al.* A20 restricts ubiquitination of pro-interleukin-1 β protein complexes and suppresses NLRP3 inflammasome activity. *Immunity* 2015;42:55–67.
- Hammer GE, Turer EE, Taylor KE, *et al.* Expression of A20 by dendritic cells preserves immune homeostasis and prevents colitis and spondyloarthritis. *Nat Immunol* 2011;12:1184–93.
- Matmati M, Jacques P, Maelfait J, *et al.* A20 (TNFAIP3) deficiency in myeloid cells triggers erosive polyarthritis resembling rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2011;43:908–12.
- Vande Walle L, Van Opdenbosch N, Jacques P, *et al.* Negative regulation of the NLRP3 inflammasome by A20 protects against arthritis. *Nature* 2014;512:69–73.
- Zhou Q, Wang H, Schwartz DM, *et al.* Loss-of-function mutations in TNFAIP3 leading to A20 haploinsufficiency cause an early-onset autoinflammatory disease. *Nat Genet* 2016;48:67–73.
- [No authors listed]. Criteria for diagnosis of Behçet's disease. International Study Group for Behçet's Disease. *Lancet* 1990;335:1078–80.
- Troppan K, Hofer S, Wenzl K, *et al.* Frequent down regulation of the tumor suppressor gene a20 in multiple myeloma. *PLoS ONE* 2015;10:e0123922.
- Sugiyama R, Agematsu K, Migita K, *et al.* Defect of suppression of inflammasome-independent interleukin-8 secretion from SW982 synovial sarcoma cells by familial Mediterranean fever-derived pyrin mutations. *Mol Biol Rep* 2014;41:545–53.
- Janssen CE, Rose CD, De Hertogh G, *et al.* Morphologic and immunohistochemical characterization of granulomas in the nucleotide oligomerization domain 2-related disorders Blau syndrome and Crohn disease. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:1076–84.
- Lee EG, Boone DL, Chai S, *et al.* Failure to regulate TNF-induced NF- κ B and cell death responses in A20-deficient mice. *Science* 2000;289:2350–4.
- Auphan N, DiDonato JA, Rosette C, *et al.* Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- κ B activity through induction of I κ B synthesis. *Science* 1995;270:286–90.
- Aróstegui JI, Arnal C, Merino R, *et al.* NOD2 gene-associated pediatric granulomatous arthritis: clinical diversity, novel and recurrent mutations, and evidence of clinical improvement with interleukin-1 blockade in a Spanish cohort. *Arthritis Rheum* 2007;56:3805–13.
- Masumoto J, Yamazaki T, Ohta K, *et al.* Interleukin-1 β suppression in Blau syndrome: comment on the article by Martin *et al.* *Arthritis Rheum* 2009;60:2544–5.
- Gul A. Behçet's disease as an autoinflammatory disorder. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005;4:81–3.

ORIGINAL ARTICLE

A national survey on current use of mycophenolate mofetil for childhood-onset systemic lupus erythematosus in Japan

Ryoki Hara¹, Hiroataka Miyazawa¹, Kenichi Nishimura¹, Takahiro Momoi¹, Tomo Nozawa¹, Masako Kikuchi¹, Nodoka Sakurai¹, Toshitaka Kizawa¹, Sanae Shimamura², Shinsuke Yasuda², Keiju Hiromura³, Ken-ei Sada⁴, Yasushi Kawaguchi⁵, Naoto Tamura⁶, Syuji Takei⁷, Yoshinari Takasaki⁶, Tatsuya Atsumi², and Masaaki Mori¹

¹Department of Pediatrics, Yokohama City University School of Medicine, ²Division of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, ³Department of Medicine and Clinical Science, Gunma University Graduate School of Medicine, ⁴Department of Medicine and Clinical Science, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ⁵Institute of Rheumatology, Tokyo Women's Medical University, ⁶Department of Internal Medicine and Rheumatology, Juntendo University Faculty of Medicine, and ⁷Department of Pediatrics, Kagoshima University Graduate School of Health Sciences

Abstract

Purpose. To conduct a national survey of systemic lupus erythematosus (SLE) patients treated with mycophenolate mofetil (MMF). Based on current information on the use of MMF, we aimed to evaluate its efficacy and safety for childhood-onset (c-) SLE.

Target. We evaluated 115 patients by questionnaire on MMF use for c-SLE in medical facilities specializing in pediatric rheumatic and renal diseases.

Results. Average age at SLE onset was 10.6 (range, 2–15) years; average age at the time of starting MMF was 12.3 (range, 2–15) years. Average dose per body surface area was 1,059.3 mg/m²/day. Corticosteroid dosing was 20.9 mg/day before treatment but 7.7 mg/day after treatment. Laboratory values before and after MMF treatment were as follows: C3 increased from 67.0 to 84.9 mg/dl ($p < 0.001$), C4 increased from 10.2 to 15.1 mg/dl ($p < 0.001$), and anti-DNA antibody decreased from 154.2 to 18.4 IU/ml ($p < 0.001$). 24 adverse events in 21 cases were reported, but MMF was not discontinued in any.

Conclusions. The amount of MMF for c-SLE in Japan is similar to the standard dose in other countries. Reduction of corticosteroid dose and improvement of laboratory values represent efficacy of MMF. The side effects recorded here indicated tolerability of the drug.

Keywords

Childhood-onset systemic lupus erythematosus, Effectiveness, Lupus nephritis, Mycophenolate mofetil, Tolerability

History

Received 26 February 2015

Accepted 24 July 2015

Background

According to a Japanese nationwide survey from the year 2000 conducted by Yokota et al., childhood-onset systemic lupus erythematosus (c-SLE) is a rare disease with a prevalence of 4.7 per 100,000 children. It is thought that lupus nephritis (LN) lesions affect prognosis. Since a higher frequency of LN is found in children than adults, controlling the symptoms of LN is especially important in managing pediatric SLE. Traditionally, corticosteroids (CS) are used for SLE treatment, but several problems are associated with their use in children, such as growth retardation. Additional common side effects include hyperglycemia, compromised immunity, and osteoporosis seen on high-dose long-term single-drug administration of CS. Currently, combining CS treatment with immunosuppressive drugs is an evolving strategy to minimize the amount of steroid necessary for good disease control. Cyclophosphamide (CY) is also utilized in Japan because of its proven efficacy, but a major side effect of this drug is the development of gonadal disorders related to the cumulative administered dose. Thus, safer treatment with greater efficacy is urgently required.

Mycophenolate mofetil (MMF) is an inhibitor of *de novo* purine biosynthesis and is used as an immunosuppressive drug after organ transplantation, because lymphocytes rely on such purine synthesis for their function. Recently, several reports have shown that MMF also possesses therapeutic efficacy in LN. For moderate-to-severe LN (class III and IV), the efficacy of MMF for inducing remission was reported to be similar to or greater than CY [1–8]. Infection resulting from immunosuppression is a known complication requiring special vigilance, but it has also been shown in several studies that the infectious complications resulting from MMF treatment are also comparable to or less than that with CY [2–4,7,8]. Finally, the efficacy and safety of MMF have been reported to be similar to or higher than that with azathioprine (AZA) [9]. Based on these data, it is recommended in the clinical practice guidelines for LN by the current Europe College of Rheumatology, the European League Against Rheumatism (EULAR) [10], and the American College of Rheumatology (ACR) [11] that MMF, even though it is not approved for this indication, should be a first-line treatment. Since the number of patients for whom off-label MMF has been used has increased gradually in Japan as outlined above, the time may have now come to license it for SLE. The national survey of SLE patients treated with MMF was performed mainly by the Japan College of Rheumatology (JCR). From the collected information, here we have analyzed changes in clinical laboratory values in childhood-onset cases over the disease course under

Correspondence to: Masaaki Mori, Yokohama City University School of Medicine Department of Pediatrics, 3-9 Fukuura, Kanazawa-ku, Yokohama, Kanagawa, Japan. Tel: +81-(0)45-787-2800. Fax: +81-(0)45-787-0461. E-mail: masaaki.mori.mm@gmail.com

MMF therapy. In our study, we aimed to evaluate the efficacy and safety of MMF in c-SLE.

Methods

The recorded use of MMF and its efficacy and safety were analyzed retrospectively using data from pediatric rheumatic disease and/or renal disease specialist clinics in Japan for patients with LN at onset or recurrence. We evaluated cases where MMF treatment had started before the patients reached 16 years of age.

For the purpose of acquiring data to support the licensing of MMF for c-SLE in Japan, nationwide medical facilities were surveyed concerning their use of the drug in August 2014 by the "Subcommittee on Surveillance of Mycophenolate use in Lupus Nephritis" of the Japan College of Rheumatology (Chairman: Prof. Tatsuya Atsumi, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Division of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology). For c-SLE patients, a request for research cooperation was sent to 12 facilities specialized in pediatric rheumatic and kidney disease treatment through accreditation from the Pediatric Rheumatology Association of Japan and the Japanese Society for Pediatric Nephrology in August 2014. A total of 147 cases were reported from these 12 facilities. Of these, 115 patients under 16 years of age had developed SLE in childhood and received MMF treatment for the onset or recurrence of LN.

The questions asked in the questionnaire were as follows: date of birth, gender, date of SLE onset, date of LN onset, histopathological diagnosis of LN before MMF administration and clinical history at MMF treatment initiation (onset or recurrent), height and weight, laboratory findings at the start of MMF administration, changes in the MMF dose, concomitant medications, MMF withdrawal or laboratory findings at the last observation time (blood biochemistry, urine, and anti-DNA antibody titer), date of onset of side effect(s), and MMF dose when the side effect occurred. We evaluated the statistical significance of changes of laboratory findings by paired Student's *t*-test, and the anti-DNA antibody titer after log transformation.

The protocol of this survey and research plan was approved by the Clinical Ethics Committee of Yokohama City University Hospital (approval number: B140601012). This study was performed also with the approval of the Ethical Committees in each of the medical facilities. The questionnaire was anonymous and unlinked to any documentation collected.

Results

Of the 147 cases submitted by the cooperating facilities, 115 were SLE patients who had started MMF treatment in childhood (defined as under 16 years of age). The cohort consisted of 23 boys and 92 girls, with an average age at SLE onset of 10.6 ± 3.4 (range, 2–15) years. Age at initiation of MMF treatment was 12.3 ± 2.7 (range, 2–15) years. The mean duration of MMF administration was 58.2 (range, 3–141) months.

Histopathology of LN (ISN/RPS classification)

Of the 115 cases, histological classification of renal status had been described in 112 prior to initiating MMF treatment, as follows: 6 class I, 25 class II, 22 class III, 48 class IV, 5 class V, 1 class III + V, and 5 class IV + V. Classification of the remaining three was unknown due to lack of response in the questionnaire (Table 1).

Dose

The total average MMF dose for maintenance therapy was $1,355.1 \pm 423.1$ mg/body/day (range, 500–2500 mg). However, there was a large degree of variability in the dose per unit weight

Table 1. Histological findings of the biopsy specimens before administration of MMF.

Class (ISN/RPS)	Cases
I	6
II	25
III	22
IV	48
V	5
III + V	1
IV + V	5
Not filled	3
Total	115

and body surface area because of the differences in age and sizes of the patients. The average dose per body surface area was $1,059.3 \pm 295.1$ mg/m²/day (range, 353.1–2192.7 mg), per body weight was 33.8 ± 11.4 mg/kg/day (range, 9.4–86.2 mg). Variation in total dose was still great even when corrected for age, body weight, and surface area (Figure 1).

Renal function and MMF dose

Uehara et al. had analyzed renal function in Japanese children aged between 2 and 18 years and established a formula for estimated glomerular filtration rate (eGFR) based on body length and the measured serum creatinine (Cr) level [12]. Here, we examined correlations of eGFR and MMF dose in 80 patients where data on body length and serum Cr level before drug administration were available. We found no correlations with body surface area or body weight (Figure 2). We identified 3 cases with eGFR decreased to under 60 mL/min/1.73 m², the reference value for chronic kidney disease (CKD). Further 12 cases with eGFR < 90 mL/min/1.73 m² required management for chronic renal failure. All these 15 patients had been given similar doses of MMF as the remaining 100. Most of the latter 15 cases experienced no adverse events over the observation period, except for one 12-year-old girl with hair loss, whose eGFR was 65.3 mL/min/1.73 m².

Concomitant medications in addition to CS

There were 35 patients where MMF was combined with CY and 11 with other immunosuppressive drugs including 2 receiving azathioprine (AZA), 7 tacrolimus, 2 cyclosporine, and 5 mizoribine (with some patients receiving more than one of these).

Efficacy

Almost all cases had undergone MMF therapy for at least 6 months but only one case had received MMF for 3 months, so we had excluded the case and had analyzed factors associating with efficacy in 114 patients. The CS dose was 20.9 ± 11.7 mg/day (prednisolone equivalent) at the time of starting MMF, but 7.7 ± 5.8 mg/day at the last observation time. Thus, MMF treatment was associated with a tapering of the CS dose. A significant improvement in laboratory values was observed over this period: C3 increased from 67.0 ± 28.7 to 84.9 ± 17.4 mg/dl ($p < 0.001$), C4 increased from 10.2 ± 7.7 to 15.1 ± 6.3 mg/dl ($p < 0.001$), and geometric mean anti-DNA antibody titer decreased from 48.6 to 12.7 ($p < 0.001$). Serum albumin (Alb) tended to increase from 3.8 ± 0.7 g to 4.9 ± 4.9 g/dl ($p = 0.052$). Regarding urinary findings, the number of cases was insufficient for evaluation (Figure 3).

Safety

24 adverse events of MMF were reported in 21 patients. Total person-years for MMF therapy of 115 cases are 563.0, so there

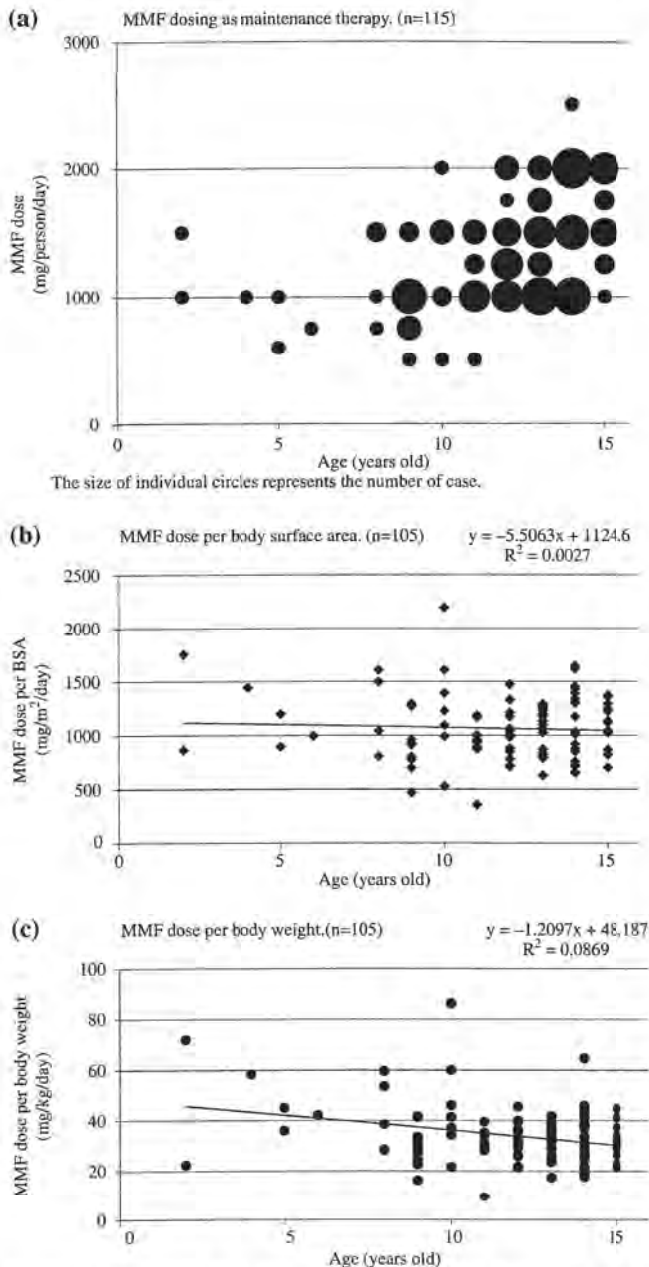


Figure 1. MMF total dose and per body indices. (a) shows total MMF dose classified by age of patients. Generally, there seemed to be some correlation between patient's age and MMF total dose. (b) presents a correlation between patient's age and MMF dose per body surface area. There were much differences of MMF dose per BSA in each age, so we did not seek any correlation between MMF dose per BSA and patient's age. (c) presents a correlation between patient's age and MMF dose per body weight. Because of much differences in each age, there also were no correlations between MMF dose per BW and patient's age. (b, c) suggest that MMF dose was determined by BSA or BW of patient, regardless of one's age.

were 4.3 events per 100 person-years. The most common side effect was herpes zoster, seen in 8 cases. MMF administration was restarted after a washout period in all these patients. Herpes zoster developed at different ages, and was not associated with any large differences in MMF dose relative to the average received by all the patients. The second most common side effect was the occurrence of gastrointestinal symptoms such as diarrhea, abdominal pain, and vomiting (7 cases). Gastrointestinal symptoms were treated with washout, symptomatic treatment, and herbal medicine.

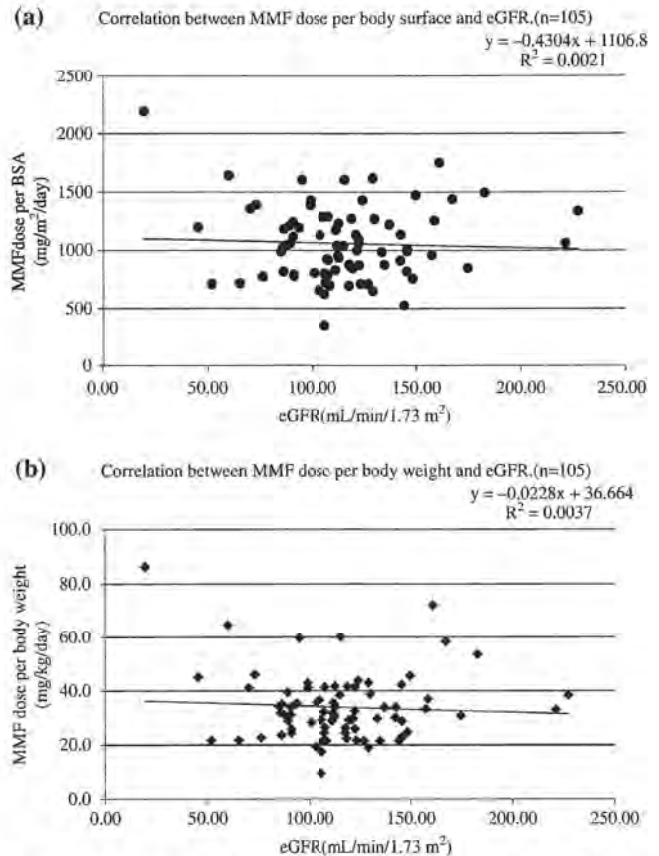


Figure 2. Correlations corrected MMF dose and renal function. (a) shows correlation between MMF dose per BSA and eGFR. There was no correlation between them. Average dose per BSA was almost equal to that for patient of renal transplantation in each age. (b) shows correlation between MMF dose per BW and eGFR. MMF dose per BW also did not correlate with eGFR. (a, b) present that physicians did not seem to count patient's renal function, but the result may rely on absence of patient with poor renal function.

Finally, other side effects such as decreased levels of IgG (3 cases) and leukopenia (2 cases) were also reported. The MMF dose was decreased as a result of side effects in only 6 patients, and was not discontinued in any (Table 2).

Discussion

c-SLE is a relatively common autoimmune disease in childhood, which can be life-threatening. It is well-known that c-SLE causes systemic organ damage, and especially LN is observed more frequently (in about 70% of cases) in childhood-onset disease than in adult-onset SLE [13]. Since it is generally accepted that LN is one of the complications significantly affecting prognosis, its management is important for improving the care of SLE patients. Relative to treatment with CS alone, the prognosis of SLE, especially renal prognosis, has been greatly improved by co-administration of CY, which also allowed a reduction in the CS dose [2,14]. This is important due to the growth-stunting effect of CS in childhood-onset cases. However, side effects of CY include gonadal failure, raising later problems such as amenorrhea and fertility decline. This is therefore a challenge for the long-term management of pediatric cases. Thus, there is an urgent need for treatments with reduced side effects but with efficacy similar to or better than the combination of CS and CY.

MMF is approved in Japan for use in preventing organ transplant rejection. Due to its lymphocyte inhibitory effect, use of MMF for LN treatment has been trialed and several reports since

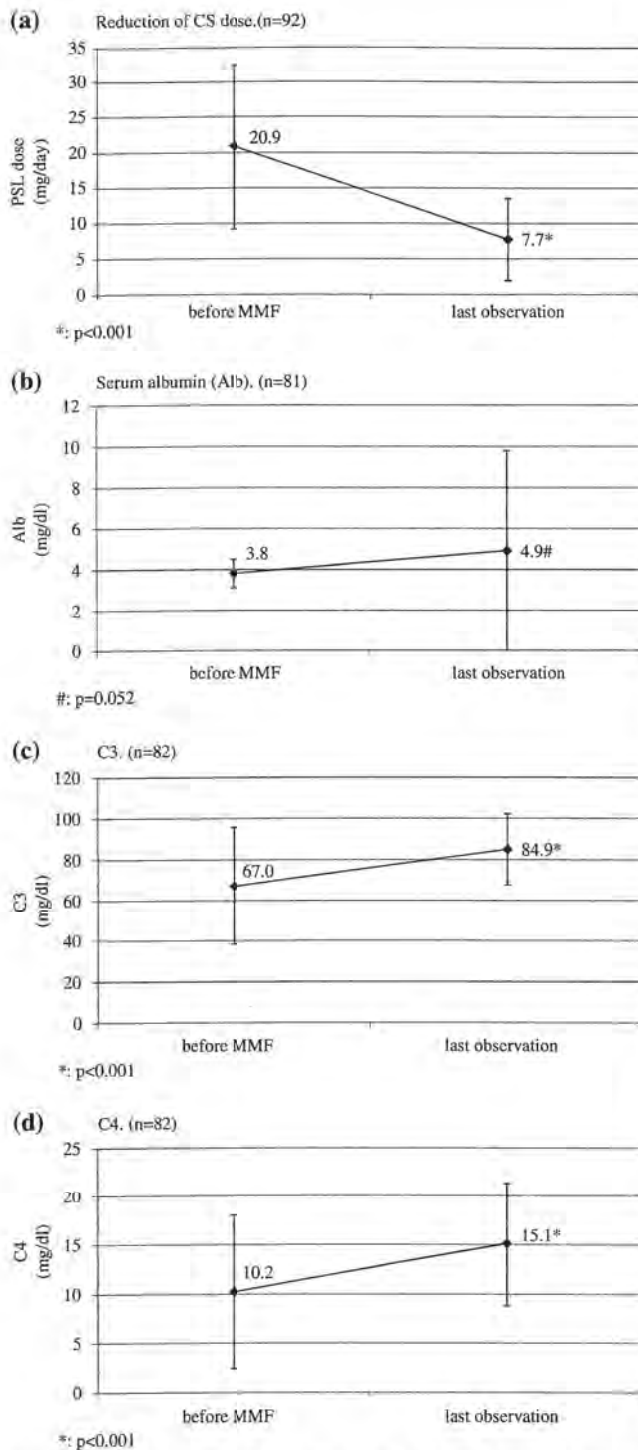


Figure 3. Changes of steroid dose and clinical values after MMF therapy. (a) presents reduction of CS dose. Significance of steroid reduction after MMF therapy shows effectiveness of MMF. (b) presents change in serum albumin. Alb concentration was not so low, but there seems to be tendency to improve after MMF therapy. (c, d) shows changes of serum complement level. Both C3 and C4 were elevated after MMF therapy, so that also suggests effectiveness of MMF therapy. (e) shows change of titer of anti-DNA antibody. Logarithm values of Ab titer were analyzed here. There also was a statistically significant improvement of anti-DNA Ab.

1998 suggest its efficacy. According to the results of studies comparing CY, AZA, and MMF, it was concluded that the efficacy of MMF was similar to that of the other drugs, but that its side effects were relatively mild [1–6,8,15,16]. Treatment with MMF was associated with lower relapse rates than AZA [9]. On the other

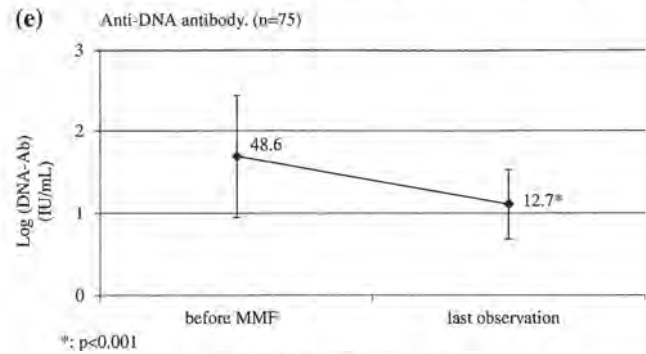


Figure 3. (Continued).

hand, gastrointestinal disorders and herpes zoster were observed as side effects of MMF, although the frequency of these side effects was similar to what is seen with the other drugs [2–4,7,8,15]. In addition, because CY causes gonadal failure, it was considered that the safety profile of MMF was sufficiently favorable in comparison with other immunosuppressive drugs. Based on these data, although MMF is still not approved for SLE, either MMF or intravenous CY (IVCY) was strongly recommended by EULAR/European Dialysis and Transplant Association (EDTA) in 2012 for the first-line treatment of class-III and class-IV (\pm V) LN and as maintenance therapy [10]. MMF administration is also positioned as a standard treatment for LN in the guidelines of the ACR [11]. According to the latter, the risk of kidney lesions in pediatric SLE patients is relatively high, but it was recognized that evidence for this is limited, and management needs to be based on an extrapolation from data obtained in adults.

Background of the survey on the current use of MMF in Japan

Due to the predicted increase of SLE/LN in Japan, a request for licensing MMF for this indication was submitted to the Ministry of Health, Labour and Welfare by the Japan College of Rheumatology (JCR) in 2011. After discussing this issue in the “Evaluation Committee on unapproved or off-label drugs with high medical needs,” this request was considered to have a high degree of medical utility. Chugai Pharmaceutical Co. Ltd., accordingly received a request for drug development from the Ministry of Health, Labour and Welfare. The desire for approval was seen by the public as an industry-biased view, however. Therefore, as a result of this public knowledge-based evaluation by the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), the JCR was requested to survey the current actual domestic use of MMF and to establish guidelines for optimal use and dosage. This investigation was mainly performed by the “Subcommittee on Surveillance of Mycophenolate use in Lupus Nephritis” (Chairman: Prof. Tatsuya Atsumi, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Department of Rheumatology, Endocrinology and Nephrology) established by the JCR.

Subjects

According to the ACR guidelines and the EULAR/EDTA recommendations, patients eligible for MMF treatment were those with severe LN classified as class III/IV [10,11]. However, in the present survey, we found that in practice, relatively mild LN cases, such as class I/II, were also treated with MMF. We speculate that the reason why MMF was selected even in these mild cases was because of its ease of administration, lack of irreversible gonadal failure accompanying the alternative CY treatment, and because pediatric arthritis physicians and kidney specialists were focusing on long-term renal prognosis for the purpose of improving treatment. In the event that the efficacy and safety of MMF will be

Table 2. Reported adverse effects.

Case number	Gender	Adverse event	Age at presentation	MMF dose at presentation		Resolution	CS dose (mg/day)	Suspect drugs
				Total dose (mg/d)	Per BSA (mg/m ² /d)			
1	F	Herpes zoster	11	1250	1237	Restart with lower dose after washout (1000 mg/d)	10	MMF, PSL
2	F	Herpes zoster	10	1000	935	Restart with lower dose after washout (500 mg/d)	10	MMF, PSL
3	F	Herpes zoster	13	1000	892	Restart after washout	ND	PSL
4	F	Herpes zoster	15	1750	1115	Restart after washout	ND	CY, PSL
5	F	Herpes zoster	22	2000	1308	Restart after washout	ND	PSL
6	F	Herpes zoster	13	1750	1328	Restart after washout	ND	PSL, CY, AZA
7	F	Herpes zoster	11	1000	1091	Restart after washout	7.5	ND
8	M	Herpes zoster	14	1000	788	Restart after washout	ND	ND
9	F	Varicella	7	750	991	Restart after washout	9	MMF, PSL, CY
10	F	Diarrhea	13	1250	1096	Restart after washout	ND	ND
11	F	Diarrhea	15	2000	1451	Restart after washout	ND	ND
12	F	Diarrhea, abdominal pain	13	1000	1064	Restart after washout	7.5	MMF
13	F	Vomiting, abdominal pain	13	1250	–	Reduce dose (1000 mg/d)	ND	ND
14	F	Vomiting, abdominal pain	14	1500	1130	Chinese herb	30	MMF
		Decrease of IgG	14	1500	1130	Observation only	35	MMF, PSL, CyA
15	F	Abdominal pain	10	1000	926	Reduce dose (750 mg/d)	ND	ND
16	F	Abdominal discomfort	13	1500	1059	Add H-2 blocker	ND	MMF
17	F	Decrease of IgG	13	1250	870	Observation only	15	MMF
18	M	Decrease of IgG leukopenia	12	2000	1667	Reduce dose (1250 mg/d)	25	ND
			12	2000	1667	Reduce dose (1250 mg/d)	25	ND
19	F	Leukopenia	19	2000	1370	Reduce dose (1500 mg/d)	ND	ND
20	M	Decrease of platelet	5	500	746	Restart after washout	15	AZA
21	M	Hair loss	12	1000	718	Observation only	40	MMF
		Compromised	13	1000	718	Observation only	20	ND

MMF mycophenolate mofetil, PSL prednisolone, CY cyclophosphamide, AZA azathioprine, CyA cyclosporine A, ND no data.

established in future trials, it could be proposed that use of MMF is extended to other stages.

Dose

According to the ACR guidelines, 2–3 g/day in non-Asians or 2 g/day in Asians is recommended for induction MMF therapy and 1–2 g/day for maintenance therapy [11]. The EULAR consensus also approved 3 g/day as induction therapy [10]. Monitoring the plasma mycophenolic acid (MPA) concentration in renal-transplanted adult patients revealed that this was correlated with body weight rather than surface area. In that study, it was reported that the optimal dose was 24 mg/kg/day [17]. According to a report by Kazyra on c-SLE [7], the optimal dose was 20–25 mg/kg/day and the median dose at the start of MPA was 500 mg/day, and at 12 months, 1500 mg/day. On the other hand, the optimal dose in the US and EU is set to 1200 mg/m²/day when used for suppression of rejection of renal transplants in children. A PK model has also been developed as part of the investigations into the optimal dose for c-SLE [18]. In addition, correlations between weight-adjusted dosing and MPA exposure in renal transplantation remained moderate, and it was reported that there was a large individual difference in the PK parameters [19]. Moreover, there was no difference in treatment failure after renal transplantation between a concentration-controlled group and fixed-dose group of patients [20]. As we could not locate any studies in the literature in which the relationship between dose and therapeutic effect had been determined in c-SLE, further investigation of optimal dosage is required.

Regarding the relationship between dose and side effects, published results of a meta-analysis revealed that hematologic abnormalities, infectious diseases, and gastrointestinal symptoms were the most common reasons for MMF dose reduction [21]. However, there were no differences in treatment failure or in side effects such as gastrointestinal symptoms, hematologic abnormalities,

and infectious disease, between patients concentration-controlled by therapeutic drug monitoring and patients on a fixed-dose schedule. In addition, it was reported that herpes simplex infection was higher in the concentration-controlled group [22]. Our present study showed that the average dose used in Japan was 33.8 mg/kg/day and 1,061 mg per m²/day, which is similar to that used for LN and post-renal transplantation in other countries. We also saw 4 of 26 cases with side effects during administration of 20–25 mg/kg/day for one year, as described in a report by Kazyra [7]. This is also consistent with the likelihood that our data on dose and occurrence of side effects in Japan are similar to the reported experience in other countries.

Efficacy

We compared the dose of CS patients received before starting MMF with the dose they were receiving at the end of MMF treatment, or at the last observation. Where laboratory values were available, further comparison took the disease activity index of SLE or LN into account, such as complement titers, the presence of anti-DNA antibodies, and urinary protein. The CS dose was significantly lower at the last observation than that before MMF therapy was started, and complement activity and the amount of anti-DNA antibody also improved. This suggests that MMF is able to reduce the amount of CS required at the same time in addition to suppressing SLE and LN. For the urinalysis, there was too little data on quantitative indicators, such as 24-h urine protein, urine protein:creatinine ratio, or creatinine clearance, so we could not make any comparisons. In a meta-analysis of several other reports comparing MMF with other drugs such as AZA and IVCY, it was suggested that the efficacy of MMF for remission induction and maintenance was similar to or better than the other drugs [8]. Although there are very few reports on pediatric cases, a therapeutic effect on complement activity, renal function, and urinary findings, in addition to a reduction in the amount of CS required,

was noted in 26 cases, including patients switched from AZA as well as those where MMF was used for induction and maintenance therapy [7]. Specifically in Asia, Kizawa et al. also reported such MMF efficacy in 9 cases [13].

Side effects

According to previous reports on MMF administration, the side effects of this drug are similar to or less than those of AZA and IVCY [2–4,7–9,15]. The main side effects of MMF are reported as diarrhea [3]. In the present study, herpes zoster was the most often observed disease due to side effects of MMF, followed by gastrointestinal symptoms, such as abdominal pain and diarrhea. All patients with zoster recovered after temporary cessation of MMF treatment and MMF administration could be resumed even up to the original dose in many cases. However, in two cases, the dose of MMF had to be reduced. Regarding the gastrointestinal side effects, symptomatic treatment or temporary cessation of MMF administration was also sufficient except in one patient where resumed treatment had to be at a reduced dose. Other reported side effects included decreased leukocyte counts, thrombocytopenia, and reduction of IgG levels. The types and frequencies of all these side effects were similar to those of previous reports. In the present study, no life-threatening side effects occurred and temporary MMF therapy withdrawal could always be followed by treatment resumption.

Teratogenicity of MPA

MPA teratogenicity was reported for the first time in 2008 [23]. It was then shown in a prospective study that the incidence of fetal malformation was increased by MPA [24]. In animal experiments and in humans, typical features of MPA embryopathy were cleft lip and palate, microtia, external auditory canal atresia, chorioretinal coloboma, and hypertelorism. The FDA recommends that women of childbearing age avoid pregnancy during MMF therapy and until at least 6 weeks after cessation of MMF administration. EULAR/EDTA also recommends that MMF should not be used for three months before pregnancy [10]. Although no data on pregnancy during MMF administration or pregnancy and childbirth post-withdrawal of MMF were available in the present study, advice on teratogenicity and contraception should be similar in Japan to that in other countries. Given the possible long-term effects of administration of MMF, this should also be taken into consideration, even in prepubertal girls.

Limitations

The present study has several limitations. First, it was performed using the limited information provided by a national survey, as shown in summary data tables. Therefore, clinical parameters such as SLEDAI and changes to renal pathology could not be evaluated because this information is missing in the questionnaires. Second, this study evaluated the collected cases retrospectively. A prospective controlled study adhering to a strict protocol including collection of detailed data will be necessary in order to confirm the efficacy and safety of MMF for c-SLE.

Conclusions

We evaluated data on 115 c-SLE/LN patients obtained by questionnaire during a national survey on the actual clinical use of MMF, and conclude that MMF does improve LN disease activity indices, for example, as reflected in changed complement values, and SLE disease activity indices, for example, as reflected in anti-DNA antibody titers. Additionally, the required dose of PSL could also be reduced. Furthermore, the side effects of MMF in children were similar to those reported previously in adults, and there were

no serious events requiring permanent cessation of MMF treatment. Since almost all previous reports on the efficacy and safety of MMF for c-SLE were very small-scale, we believe that our present data based on a large number of cases strongly supports the notion that MMF is efficacious and safe for treating c-SLE.

Acknowledgments

We express our gratitude to the following collaborators for their efforts to facilitate our study (the facilities are in alphabetical order): Naomi Iwata (Aichi Children's Health and Medical Center), Minako Tomiita, Akiko Yamaide, Sachiko Misumi (Chiba Children's hospital), Ryojiro Tanaka (Hyogo Prefectural Kobe Children's Hospital), Akira Yoshida, Mihoko Inoue, Daisuke Fukao (Japanese Red Cross Wakayama Medical Center), Tomohiro Kubota (Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences), Shuichi Ito, Koichi Kamei, Masao Ogura, Mai Sato, Masaki Takahashi, Zentaro Kiuchi, Masaki Fuyama (National Center for Child Health and Development), Yasuhiko Ito (Nippon Medical School), Hiroshi Yoshimura, Tomoo Kise (Okinawa Prefectural Nanbu Medical Center and Children's Medical Center), Shuichiro Fujinaga, Akifumi Yamada, Yasuko Urushibara, Taichi Hara (Saitama Children's Medical Center), Tadashi Matsubayashi, Naoya Fujita (Seirei Hamamatsu General Hospital), Hiroshi Hataya, and Riku Hamada (Tokyo Metropolitan Children's Medical Center).

Conflict of interest

R. H., H. M., K. N., T. M., T. N., M. K., N. S., T. K., S. S., K. S., S. T., Y. K.: none.

S. Y. has received research grant and/or speaking fee from Bristol Myers Squibb, Astellas Pharma Inc., and Chugai Pharmaceutical Co.

K. H. has received grant and/or speaking fee from Astellas Pharma Inc. and Chugai Pharmaceutical Co.

N. T. has received research grant and/or speaking fee from Chugai Pharmaceutical Co and Astellas Pharma Inc.

Y. T. has received research grant and/or speaking fee from Santen Pharmaceutical Co., Ltd., Daiichi Sankyo Company Limited, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, Bristol-Myers Squibb, AstraZeneca plc, Astellas Pharma Inc., MSD K.K., Chugai Pharmaceutical Co., Asahi Kasei Pharma Corporation, Eisai Co., and Janssen Pharmaceutical K.K.

T. A. has received research grant and/or speaking fees from Astellas Pharma Inc., Bristol Myers Squibb Co., Chugai Pharmaceutical Co. Ltd., Daiichi Sankyo Co. Ltd., Eisai Co. Ltd., and Mitsubishi-Tanabe Pharma Co.

M. M. has received lecture fees from MSD, Sumitomo Dainippon Pharma, and Pfizer Japan Inc., and has served as a consultant adviser to Bristol-Myers Squibb and Astellas Pharma.

References

- Chan TM, Li FK, Tang CS, Wong RW, Fang GX, Ji YL, et al. Efficacy of mycophenolate mofetil in patients with diffuse proliferative lupus nephritis. Hong Kong-Guangzhou Nephrology Study Group. *N Engl J Med.* 2000;343(16):1156–62.
- Contreras G, Pardo V, Leclercq B, Lenz O, Tozman E, O' Nan P, et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med.* 2004;350(24):971–80.
- Ginzler EM, Dooley MA, Aranow C, Kim MY, Buyon J, Merrill JT, et al. Mycophenolate mofetil or intravenous cyclophosphamide for lupus nephritis. *N Engl J Med.* 2005;353:2219–28.
- Chan TM, Tse KC, Tang CS, Mok MY, Li FK. Long-term study of mycophenolate mofetil as continuous induction and maintenance treatment for diffuse proliferative lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(4):1076–84.
- Ong LM, Hooi LS, Lim TO, Goh BL, Ahmad G, Ghazalli R, et al. Randomized controlled trial of pulse intravenous cyclophosphamide versus mycophenolate mofetil in the induction therapy of proliferative lupus nephritis. *Nephrology (Carlton).* 2005;10(5):504–10.
- Lau KK, Ault BH, Jones DP, Butani L. Induction therapy for pediatric focal proliferative lupus nephritis: cyclophosphamide versus mycophenolate mofetil. *J Pediatr Health Care.* 2008;22(5):282–8. doi: 10.1016/j.pedhc.2007.07.006.
- Kazra I, Pilkington C, Marks SD, Tullus K. Mycophenolate mofetil treatment in children and adolescents with lupus. *Arch Dis Child.* 2010;95(12):1059–61. doi: 10.1136/adc.2009.178608.

8. Touma Z, Gladman DD, Urowitz MB, Beyene J, Uleryk EM, Shah PS. Mycophenolate mofetil for induction treatment of lupus nephritis: a systematic review and meta-analysis. *J Rheumatol*. 2011;38(1):69–78. doi: 10.3899/jrheum.100130.
9. Dooley MA, Jayne D, Ginzler EM, Isenberg D, Olsen NJ, Wofsy D, et al. Mycophenolate versus azathioprine as maintenance therapy for lupus nephritis. *N Engl J Med*. 2011;365:1886–95. doi: 10.1056/NEJMoa1014460.
10. Bertsias GK, Tektonidou M, Amoura Z, Aringer M, Bajema I, Berden JH, et al. Joint European League Against Rheumatism and European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association (EULAR/ERA-EDTA) recommendations for the management of adult and paediatric lupus nephritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71:1771–82. doi: 10.1136/annrheumdis-2012-201940.
11. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD, et al. American College of Rheumatology Guidelines for Screening, Treatment, and Management of Lupus Nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(6):797–808. doi: 10.1002/acr.21664.
12. Uemura O, Nagai T, Ishikura K, Ito S, Hataya H, Gotoh Y, et al. Creatinine-based equation to estimate the glomerular filtration rate in Japanese children and adolescents with chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2014;18(4):626–33. doi: 10.1007/s10157-013-0856-y.
13. Carreño L, López-Longo FJ, Monteagudo I, Rodríguez-Mahou M, Bascones M, González CM, et al. Immunological and clinical differences between juvenile and adult onset of systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 1999;8(4):287–92.
14. Austin HA 3rd, Klippel JH, Balow JE, le Riche NG, Steinberg AD, Plotz PH, Decker JL. Therapy of lupus nephritis. Controlled trial of prednisone and cytotoxic drugs. *N Engl J Med*. 1986;314(10):614–9.
15. Sundel R, Solomons N, Lisk L and Aspreva Lupus Management Study (ALMS) Group. Efficacy of mycophenolate mofetil in adolescent patients with lupus nephritis: evidence from a two-phase, prospective randomized trial. *Lupus*. 2012;21(13):1433–43. doi: 10.1177/0961203312458466.
16. Kizawa T, Nozawa T, Kikuchi M, Nagahama K, Okudela K, Miyamae T, et al. Mycophenolate mofetil as maintenance therapy for childhood-onset systemic lupus erythematosus patients with severe lupus nephritis. *Mod Rheumatol*. 2015;25(2):210–4. doi:10.3109/14397595.2014.950810
17. Yau WP, Vathsala A, Lou HX, Chan E. Is a standard fixed dose of mycophenolate mofetil ideal for all patients? *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22(12):3638–45.
18. Sherwin CM, Sagcal-Gironella AC, Fukuda T, Brunner HI, Vinks AA. Development of population PK model with enterohepatic circulation for mycophenolic acid in patients with childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Br J Clin Pharmacol*. 2012;73(5):727–40. doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04140.x.
19. Sagcal-Gironella AC, Fukuda T, Wiers K, Cox S, Nelson S, Dina B, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolic acid and their relation to response to therapy of childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum*. 2011;40(4):307–13. doi: 10.1016/j.semarthrit.2010.05.007.
20. van Gelder T, Silva HT, de Fijter JW, Budde K, Kuypers D, Tyden G, et al. Comparing mycophenolate mofetil regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. *Transplantation*. 2008;86(8):1043–51. doi: 10.1097/TP.0b013e318186f98a.
21. Vanhove T, Kuypers D, Claes KJ, Evenepoel P, Meijers B, Naesens M, et al. Reasons for dose reduction of mycophenolate mofetil during the first year after renal transplantation and its impact on graft outcome. *Transpl Int*. 2013;26(8):813–21. doi: 10.1111/tri.12133.
22. Wang X, Qin X, Wang Y, Huang Z, Li X, Zeng Q, et al. Controlled-dose versus fixed-dose mycophenolate mofetil for kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Transplantation*. 2013;96(4):361–7. doi: 10.1097/TP.0b013e31828c6dc7.
23. Perez-Aytes A, Ledo A, Boso V, Sáenz P, Roma E, Poveda JL et al. In utero exposure to mycophenolate mofetil: a characteristic phenotype? *Am J Med Genet A*. 2008;146A(1):1–7. doi: 10.1002/ajmg.a.32117.
24. Hoeltzenbein M, Elefant E, Vial T, Finkel-Pekarsky V, Stephens S, Clementi M, et al. Teratogenicity of mycophenolate confirmed in a prospective study of the European Network of Teratology Information Services. *Am J Med Genet A*. 2012;158A(3):588–96. doi: 10.1002/ajmg.a.35223.

「若年性特発性関節炎初期診療の手引き」改定のための アンケート調査結果の検討

岡本奈美*^{1,13} 岩田直美*^{2,13} 梅林宏明*^{3,13} 大倉有加*^{4,13} 金城紀子*^{5,13}
国島知子*^{5,13} 久保田知洋*^{6,13} 清水正樹*^{7,13} 野澤 智*^{8,13} 安村純子*^{9,13}
森 雅亮*^{10,13} 武井修治*^{6,11,13} 横田俊平*^{12,13}

Result of questionnaire survey on the Japanese guidance for diagnosis and primary treatment of juvenile idiopathic arthritis as a preparation for revision make.

Nami Okamoto*^{1,13}, Naomi Iwata*^{2,13}, Hiroaki Umebayashi*^{3,13}, Yuka Okura*^{4,13}, Noriko Kinjo*^{5,13}, Tomoko Kunishima*^{5,13}, Tomohiro Kubota*^{6,13}, Masaki Shimizu*^{7,13}, Tomo Nozawa*^{8,13}, Junko Yasumura*^{9,13}, Masaaki Mori*^{10,13}, Syuji Takei*^{6,11,13}, Shumpei Yokota*^{12,13}

*¹Department of Pediatrics, Osaka Medical Collage, *²Department of Immunology and Infectious Diseases, Aichi Children's Health and Medical Center, *³Department of General Pediatrics, Miyagi Children's Hospital, *⁴Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine, *⁵Department of Pediatrics, Faculty of medicine, University of the Ryukyus, *⁶Department of Pediatrics, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, *⁷Department of Pediatrics, Kanazawa University, *⁸Department of Pediatrics, Yokohama City University Graduate School of Medicine, *⁹Department of Pediatrics, Hiroshima University Graduate School of Biomedical & Health Sciences, *¹⁰Department of Lifetime Clinical Immunology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, *¹¹School of Health Science, Faculty of Medicine, Kagoshima University, *¹²Laboratory of Pediatric Research, Medical Research Institute of Tokyo Medical University, *¹³Working Group on Revision of Guidance for the Diagnosis and Primary Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis, Subcommittee on Research and Study of Pediatric Rheumatism, Japan College of Rheumatology

要旨

本邦では若年性特発性関節炎患児の診療に、小児リウマチを専門としない小児科医や整形外科医が携わる事が多いため、2007年に初期診療の手引きが策定された。そして昨年我々日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会内の若年性特発性関節炎初期診療の手引き改定ワーキンググループは、2015年度改定版を出版した。その編集にあたりより多くの意見を求める目的で、実際に使用する立場の医師と、小児リウマチを専門とする医師の2群にわけてアンケート調査を行った。結果、両者ともに実診療に役立つ手引きを要望しており、診断に必要な情報・手技、長期管理の方法について詳細な記載が必要であることがわかった。また今回の調査からは、従来少ないとされていた付着部炎関連関節炎の患児も少なからず存在する事もわかった。このような形式のアンケート調査は、実診療における手引きを作成するにあたって「使用する側の意見」「専門家の意見」が明らかになるだけでなく、疾患そのものの実情が明らかになることがわかり、非常に有益な方法であると結論できる。

The first version of guidance for the diagnosis and primary treatment of juvenile idiopathic arthritis was published in 2007, since its primary care in Japan is often done by general pediatricians or orthopedists whose major is not pediatric rheumatology. For the purpose of better revision make, the questionnaire survey was performed by working group on revision of guidance for the diagnosis and primary treatment of juvenile idiopathic arthritis in Japan College of Rheumatology. We sent the questionnaires of different contents to pediatric specialists and pediatric rheumatologists. As a result, both groups thought that the guidance like a practical manual is necessary, which contains concise information for diagnosis, treatment and longitudinal management. Moreover, it was discovered that not a few enthesitis related arthritis patients existed, though they had been thought to be uncommon in Japan.

Thus, we think that the questionnaire procedure like this survey is useful not only for manifesting opinions of both users and promoters, but also for revealing actualities of the disease itself.

*¹ 大阪医科大学大学院医学研究科泌尿生殖・発達医学講座小児科, *² あいち小児保健医療総合センター感染・免疫科, *³ 宮城県立こども病院総合診療科・リウマチ科, *⁴ 北海道大学大学院医学研究科小児科学分野, *⁵ 琉球大学大学院医学研究科育成医学, *⁶ 鹿児島大学大学院医学総合研究科小児科学, *⁷ 金沢大学医薬保健研究域医学系小児科, *⁸ 横浜市立大学大学院医学研究科産生成育小児医療学, *⁹ 広島大学大学院歯薬保健学研究所小児科学, *¹⁰ 東京医科歯科大学大学院歯学総合研究科生涯免疫難病学講座, *¹¹ 鹿児島大学大学院保健学研究科, *¹² 東京医科歯科大学医学総合研究所小児難病部門, *¹³ 日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会 若年性特発性関節炎初期診療の手引き改定ワーキンググループ

(別冊請求先：大阪医科大学小児科 岡本奈美) [〒 569-8686 高槻市大学町 2-7]

Key words: 若年性特発性関節炎 (Juvenile Idiopathic Arthritis), 診断 (Diagnosis), 治療 (Treatment), 手引き (Guidance), アンケート (Questionnaire)

略語 American College of Rheumatology (ACR), International League of Associations for Rheumatology (ILAR), interleukin (IL), 若年性特発性関節炎初期診療の手引き (手引き), Juvenile Idiopathic Arthritis (JIA), macrophage activation syndrome (MAS), methotrexate (MTX), non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), positron emission tomography (PET), 小児慢性特定疾患研究事業 (小慢), World Health Organization (WHO)

はじめに

若年性特発性関節炎 (Juvenile Idiopathic Arthritis: JIA) は国際リウマチ学会 (International League of Associations for Rheumatology: ILAR) と世界保健機構 (World Health organization: WHO) の主導により 1994 年に提案された疾患概念で, 「16 歳未満に発症し, 少なくとも 6 週間以上持続する原因不明の慢性関節炎」と定義される¹⁾. ILAR による分類基準は存在するものの, 診断基準や特異的な症状・検査マーカーなどは存在しないため鑑別診断・除外診断が重要となる.

JIA 患者数は小児慢性特定疾患研究事業 (以下, 小慢) のデータの調査によると小児 1 万人あたり約 1 人と稀な疾患である一方²⁾, 小児リウマチを専門とする医師の数も決して多いとは言えず, 地域偏在も存在する. そのため, 他の領域に専門性をもつ小児科医や一般小児科医, それにリウマチ専門の内科・整形外科医が JIA 診療にあたる機会が多い. そこで, 関節炎を診る機会が少ない小児科医のために, また小児の病態評価・治療経験が少ない内科・整形外科医のために, 標準的な JIA の初期診療を普及させる目的で 2007 年小児リウマチ学会から「若年性特発性関節炎初期診療の手引き (以下, 手引き) 2007」が提案された³⁾. JIA という疾患概念や成人とは異なる病態・治療の啓蒙について, 本手引きが果たした役割は大きい.

その後診断・治療に対して多くの進歩や新たな報告が相次ぎ, up to date のための改定が必要となり, 2013 年に日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会内に手引き改定のためのワーキンググループが設置された. 上記メンバーで編集作業を行うにあたり, より使いやすい手引き策定のため, 手引きの使用状況や手引きに求める内容についてのアンケート調査を行うこととした (Fig. 1). その結果, 本邦における JIA 診療の実情が明らかとなり, 貴重なデータを得たため報告する. なお, 改定版は「若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2015」として昨年上梓している⁴⁾.

方法

アンケート票は 2 種類作成し, ①入院施設のある小児科に専従する日本小児科学会認定専門医 (以下, 小児科専門医), ②小児リウマチを専門とし, 日常的に小児リウマチ性疾患診療を行っている小児科医 (以下, 小児リウマチ診療医) に記入を依頼した. ①は日本小児科学会認定専門施設 (519 施設: 当時) の小児科代表宛てに, ②は日本小児リウマチ学会運営委員, 日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会委員, 本ワーキンググループ委員 (重複除き 57 人: 当時) 宛てにアンケート用紙を送付した. それぞれのアンケート内容を, ① Table 1 と② Fig. 2 に示す. ①では全国小児科施設における JIA 診療経験と手引き 2007 の使用状況や改定に求める内容を, ②では国際的な JIA 診療の実情を踏まえ, 本邦における診断・治療最適化のための意見を広く求める内容とした. なお, JIA の ILAR 分類名など, 質問に含まれる用語や表現法については手引き 2007 原文引用のまま掲載しており, 2015 年改定版とは異なることを断っておく.

結果

それぞれ①日本小児科学会認定専門施設からは 519 施設中 281 施設 (回答率 54%), ②小児リウマチ診療医からは 57 人中 18 人 (回答率 32%) の回答を得た.

小児科専門医の JIA 診療機会については, 213 施設 (76.9%) の施設で JIA の診療経験があると回答があり, 各地域の中核病院に勤務する小児科医の多くが JIA 診療を経験していると思われた (Fig. 1). また, JIA 診療経験のある 213 施設中 133 施設 (62.4%) が手引き 2007 を使用していると回答しており, 手引き 2007 の普及率・必要性の高さが示された. 一方, JIA 診療経験のある施設に比べ, ない施設では手引き 2007 の認知度は低かった (87.8% vs. 57.8%).

さらに「手引き 2007 を参考に診療を行っている」と

Table 1. 日本小児科学会認定専門施設へのアンケート内容

各設問に、特に断りがない限り、一つだけ○をつけてお答えください。

- 1) 先生のご施設では若年性特発性関節炎（以下 JIA）の患者様はいらっしゃいますか？
 - ① はい
 - ② いいえ
 - ③ かつていたが、今はいない
- 2) 「JIA 初期診療の手引き 2007（以下“手引き 2007”）」のことはご存知でしたか？
 - ① 知っており、診療に利用している
 - ② 知っているが、実際に使用したことはない
 - ③ 知らない
- 3) 2) で①とお答えされた方にお伺いします。使用にあたって、「使いにくい」と感じられた点があれば自由にご記載ください。
- 4) 2) で②とお答えされた方にお伺いします。使用されていない理由をお答えください(複数回答可)
 - ① JIA患者がいなかった
 - ② 自分達の診断・治療方針があるから
 - ③ 使いにくいから(具体的に:)
 - ④ 海外の治療指針を参考にしている(文献名:)
 - ⑤ 国内の他の治療指針を参考にしている(文献名:)
 - ⑥ その他(自由記載:)

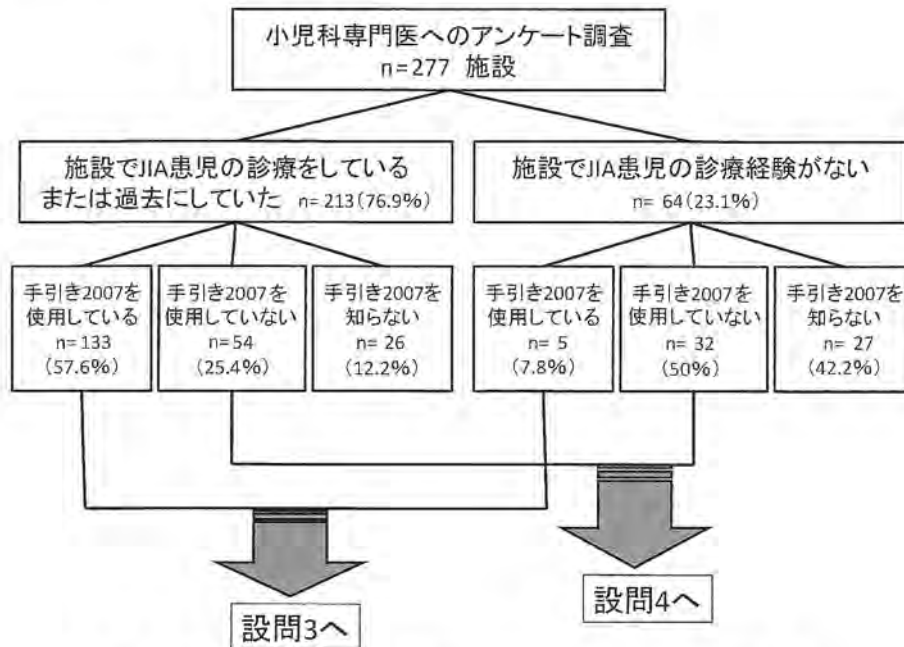


Fig. 1 日本小児科学会認定専門施設へのアンケート調査結果(設問 1,2)

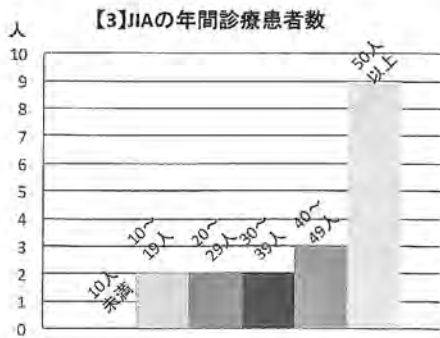
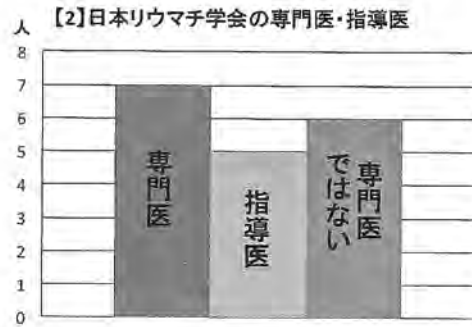
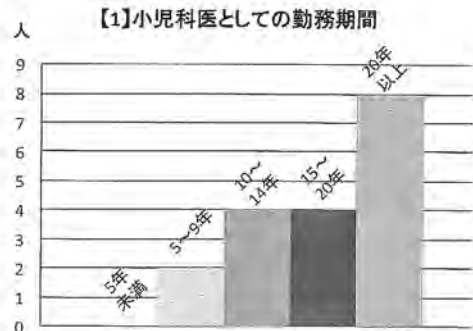
設問 1 で①または③と答えた施設を「JIA 診療経験のある施設(213 施設)」、②と答えた施設を「JIA 診療経験のない施設(64 施設)」とし、それぞれ手引き 2007 使用状況を確認した。JIA 診療経験の有無に関わらず、手引き 2007 を使用している施設は設問 3 に、手引き 2007 を使用していない施設は設問 4 に回答していただいた。

答えた施設には、JIA 診療経験の有無に関わらず、手引き改定版に求める内容を自由記載していただいた (Table 2 左項)。特に要望が多かったものには下線を引いたが、通常小児科医が訓練を受けていない関節炎の診察・評価の他は、総体的に JIA を診断・治療を開始した後の維持治療への移行や運動・感染管理といった、具体的かつ詳細な疾患管理の方法が望まれていた。「手引き 2007 を使用していない」と答えた施設には

その理由を記載していただき、JIA 診療経験の有無別に理由を列記した (Table 2 右項)。JIA 診療経験がある施設では、「手引き 2007 が出される前の患児」という理由が 54 施設中 40 施設 (74.1%) と最も多く、次いで「すぐに専門医/施設に紹介」10 施設 (18.5%) であった。JIA 診療経験がある施設でかつ「手引き 2007 を知らない」と答えた 26 施設のうち、19 施設 (73%) は“かつて JIA 患児がいたが今現在はいない施設”であった。

Table 2 日本小児科学会認定専門施設へのアンケート調査結果(設問 3,4)

<p>設問 3 手引きに求める改定内容</p> <ul style="list-style-type: none"> • 関節評価の方法 • 鑑別疾患の鑑別方法 • MASについて • 感染症スクリーニング(特に結核) • 保険診療・医療制度 • 全身型の NSAID の使い方 • NSAID の選択肢といつまで続けるか • DAS-28 について • 診察所見など専門用語の解説 • 治療が奏功した後どのように中止するか • 治療が奏功しない時どうするか • (血液)検査値の評価 • 治療薬の詳細 • (日常)管理方法 • 診断基準 	<p>設問 4 手引き 2007 を使用しなかった理由(n=88)</p> <p>【JIA 患児を診ている / 過去に診ていた施設】(n=54)</p> <ul style="list-style-type: none"> • 手引き 2007 が出る以前の患者 40 • すぐに専門施設に紹介した 10 • 別の本邦資料を参考にした 2 →若年性特発性関節炎, トシリズマブ治療の理論と実際 2009 (監修:横田俊平, 武井修治, メディカルレビュー社) • 自分の施設に診断・治療方針がある 1 • 無回答 1 <p>【JIA 患児はいない施設】(n=32)</p> <ul style="list-style-type: none"> • JIA 患児がいなかった 29 • すぐに専門施設に紹介した 3
--	---



病型(名称は当時)	平均(%)	参考:小慢2008データ(%)
①全身型	33.5(8.0~50)	41.7
②少関節持続型	17(10~40)	20.2
③少関節進展型	6.5(0~10)	
④多関節型RF陽性	28.5(10~35.3)	18.2
⑤多関節型RF陰性	7.5(10~30)	13.7
⑥乾癬関連関節炎	0(0~5.9)	0
⑦付着部炎関連関節炎	7.0(0~14)	1.6
⑧その他	0(0~4.0)	4.7

Fig. 2 小児リウマチ診療医へのアンケート内容・結果(設問【1】~【15】)

【1】~【3】では回答者自身の特性を, 【4】では回答者の施設における ILAR 分類ごとの患者数を, 足して 100 となるように概算で回答していただいた。横に過去の小慢データを参考値として掲載。【5】~【15】は実際の質問用紙の内容で, 自身の考えに近いものに○をつけるか, 自由記載で意見を述べていただいた。回答選択肢の横の数字は回答者の実数値である。

一方, 小児リウマチ診療医へのアンケート結果では, 回答者の3分の2が小児科医として15年目以上・日本リウマチ学会の専門医・JIA患者を年間40名以上診療しているという条件を満たしていた(Fig. 2【1】~

【3】)。

診療している JIA 患児の ILAR 分類割合(平均)では, 最も多いのが全身型で 33.5%, 次に多いのが多関節型リウマトイド因子陽性で 28.5%, ついで少関節型持続

Fig. 2 つづき

【5-1】 手引き 2007では、1995年に Fincらが提唱した ILAR(国際リウマチ学会) および WHO(世界保健機構) の小児リウマチ専門委員会の分類案について解説されています。この分類案を用いて解説する事に関し、どのようにお考えですか？

①これではよい⇒【6】へ	9人	②改訂すべき⇒【5-2】へ	9人
【5-2】では、具体的にどういった改訂か、お考えをお聞かせください。(複数回答可)			
①国・人種でリウマチの実情が異なるので本邦独自の分類基準を作成し、それに則して解説する	0人		
②1997年の Durban criteria, 2001年の Edmonton改定案に則して解説する	4人		
③症候性関節炎についても解説する	2人		
④炎症性腸疾患関連関節炎についても解説する	0人		
⑤反応性関節炎についても解説する	2人		
⑥全身型を関節症状のある/なしで亜分類を作りわけて解説する	6人		
⑦関節型はRF陽性、ANA陽性、RF/ANA陰性でカテゴライズして解説する	6人		
⑧付着部関連関節炎は若年性脊椎関節炎として成人の脊椎関節炎に準じて解説する	3人		
⑨WHOの基準は分類基準として記載し、それとは別に病態・治療については2011のACRのJIA治療指針に則し、5分類にわけて解説する。(History of arthritis of 4 or fewer joints, History of arthritis of 5 or more joints, Active sacroiliac arthritis, Systemic arthritis with active systemic features; and without active arthritis, Systemic arthritis with active arthritis; and without active systemic features)	3人		
⑩その他(自由にお書きください): 回答なし			

【6】 手引き 2007では、全身型を以下のように定義しています。

2週間以上続く弛張熱を伴い、次の項目の1つ以上の症候を伴う関節炎
 (1)典型的な紅斑 (2)全身のリンパ節腫脹 (3)肝腫大または脾腫大 (4)漿膜炎 ただし乾癬や乾癬の家族歴を認めるものは除外する

この定義についてどのようにお考えですか？(複数回答可)

①これではよい	4人
②紅斑について「一過性の紅斑」「典型的紅斑」「リウマトイド疹」と用語が混在し、具体的ではないため、統一し詳細な表記にする(写真をのせるなど)	13人
③「弛張熱」ではなく「熱(高熱)」と表現する	1人
④リンパ節「腫脹」ではなく「腫大」にする	0人
⑤咽頭痛を入れる	1人
⑥筋肉痛を入れる	0人
⑦関節炎はあってもなくてもよい	2人
⑧関節痛も入れる	1人
⑨抗核抗体・リウマトイド因子陽性を除外項目としてのせる	3人
⑩ぶどう膜炎のある例を除外項目としてのせる	4人
⑪成人スチル病の分類基準(Yamaguchi criteria)と整合性をもたせる	2人
⑫その他(自由にお書きください): ・本邦独自の病態が確立しているというエビデンスがない限り、国際的な基準に統一すべき ・MASについて追記 ・必要な血液・尿検査項目を具体的に記載(ALT, CRPなど) ・IL-18などサイトカインの知見について記載 ・前向き研究のために治療前の検体保存についての重要性を記載 ・⑤・⑥は診断の参考所見として記載のみ(基準には入れず) ・関節エコー, MRIなどで発症時に関節炎を発見すること(証明すること)の重要性を記載	

型が17%という順序であり、全身型・多関節型・少関節型だけで全体の93%を占めていた。しかし、従来少ないと思われていた付着部関連関節炎も7.0%存在していた(Fig. 2【4】)。

JIAの総論については、「ILAR分類を基準にする」「最

新の2001年Edmonton版に改定する」以外に、「全身型を関節症状の有無で分類する」「自己抗体など表現型/病態で分類する」という意見が多く見られた(Fig. 2【5】)。

全身型の定義・診断に関しては、臨床症状として

Fig. 2 つづき

【7】 【8】 【9】 全身型の「症候と検査所見」「診断」「鑑別診断」の内容について、考えをお聞かせください。

① これよい	【症候と検査所見】 11人 【診断】 14人 【鑑別診断】 14人
② 変更すべき(具体的にお書きください):	
<ul style="list-style-type: none"> ・ MASについて追記, 特に時間経過ごとに MAS合併との鑑別点をあげる ・ 必要な血液・尿検査項目を具体的に記載(ALT, CRPなど) ・ IL-18/HO-1などの知見について記載 ・ 治療前の検体保存について記載 ・ 関節エコーなど関節炎の画像所見の特徴について詳細記載 ・ PET/ガリウムシンチグラフィについて記載 ・ 骨髄検査について記載 ・ 鑑別に必要な検査とその検査で何がわかるのかを記載 	

【10】 全身型の「治療」の内容について、考えをお聞かせください(複数回答可)。

① これよい	1人
② NSAIDは省く	0人
③ NSAIDはマクロファージ活性化症候群(MAS)が疑われる時は使用しない旨追記する	11人
④ 寛解導入治療として, 経口プレドニゾロンは省く	3人
⑤ 寛解導入治療として, 経口プレドニゾロンとメチルプレドニゾロンパルス療法の使いわけを記載する	4人
⑥ メチルプレドニゾロンパルス療法を3クールにする	0人
⑦ パルス療法の後療法として, プレドニゾロンの量・減量方法を詳細に記載する	10人
⑧ 全身型はMASのリスクがあるので, 詳細な治療法は載せずに, 基本は「専門医に紹介」とする	0人
⑨ ステロイドの副作用チェックや予防法についても詳細に記載する	4人
⑩ メチルプレドニゾロンパルス療法開始前だけではなく, 全ての症例で「感染症の有無をチェック」する	13人
⑪ その他(ご自由にお書きください):	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 典型的な所見に欠けるなど診断に迷う時は専門医に相談と記載 ・ 生物学的製剤ではトシリズマブのみ適応であると記載 ・ pre-MASの状態など MASについて病態や注意喚起を強化する ・ NSAIDをいつまで続けるか? など位置付けを記載 	

【11】 手引きにおける関節型 JIAの定義について、お考えをお聞かせください。

① これよい	17人
② 変更すべき(具体的にお書きください):	
<ul style="list-style-type: none"> ・ 樹形図で示す 	

【12】 【13】 【14】 関節型 JIAの「臨床所見」「診断」「鑑別診断」の内容について、考えをお聞かせください。

① これよい	【臨床所見】 12人 【診断】 4人 【鑑別疾患】 12人
② 変更すべき(具体的にお書きください):	
<ul style="list-style-type: none"> ・ ぶどう膜炎について記載 ・ 必要な血液・尿検査項目を具体的に記載, RF/抗 CCP 抗体の感度・特異度や抗 CCP 抗体の意義, 検査の保険適応範囲を記載 ・ 関節診察手技・問診時のワンポイントアドバイス ・ (関節炎の)レントゲン・MRI読影所見について詳細に記載 ・ 関節エコーについて記載 ・ 感染症・悪性疾患の除外診断が重要であることを強調 ・ DASなど疾患活動性評価項目 	

「紅斑の詳細な説明」「マクロファージ活性化症候群 (macrophage activation syndrome: MAS) について注意喚起」, 検査所見として「インターロイキン(interleukin: IL)-18, 関節エコー, 陽電子放射断層撮影 (positron emission tomography: PET)/ガリウムシンチグラフィについて触れる」という意見が目立ち,

本項目の質問全体を通じて「早期診断かつ除外診断をいかに的確に行うか」という点に注意が払われていた (Fig. 2 【6】 ~ 【9】).

全身型の治療に関しては、「非ステロイド抗炎症薬 (non-steroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs) の位置づけ」, 「ステロイドパルス療法施行後の減量方

Fig. 2 つづき

【15】 関節型 JIA の「治療」の内容について、考えをお聞かせください(複数回答可)。

① これでもよい	0 人
② NSAID は成人関節リウマチに準じ、COX-2 選択的阻害薬を載せる	1 人
③ メトトレキサートの投与量を増やす	4 人
④ 葉酸の使用法について詳細に記載する	12 人
⑤ 経口プレドニゾロンは省く	4 人
⑥ リポ化ステロイド(デキサメタゾンバルミチン酸エステル)を追記する	3 人
⑦ 経口プレドニゾロンの量を増やす	0 人
⑧ 経口プレドニゾロンは維持量の設定をやめて急性期中止する	4 人
⑨ 難治例の治療としてサラゾスルファピリジン、タクロリムスなどの追記をする	0 人
⑩ 生物学的製剤の適応を判断する時期を早める	1 人
⑪ 生物学的製剤の適応を判断する時期を遅める	0 人
⑫ 成人 RA 同様、初診時骨びらんがある例や DAS 高値例では生物学的製剤の導入を早める(つまり、3 か月を待たずリウマチ専門医に相談する)	10 人
⑬ 全ての症例で「感染症の有無をチェック」する	13 人
⑭ その他(ご自由にお書きください): <ul style="list-style-type: none"> ・多関節型 RF 陽性で⑫を満たす症例は早くリウマチ専門医に相談する ・MTX 分 2 投与方法について記載、嘔気など MTX の副作用の対処法(制吐剤)を記載 ・小児における MTX 最大量の記載、成人の MTX 最大量改訂された点修正 ・葉酸の使用法、葉酸で効果減弱することを記載 ・MTX 不耐例は早めにリウマチ専門医に相談する ・DMARDS については削除する ・専門医に相談するタイミングを記載 ・生物学的製剤に触れる ・ステロイドの使用法変更(あくまでも急性期) 	

法」や「治療前の感染症スクリーニングの重要性」に多くの意見が集まったが、ここでも「治療中であっても MAS の発症には注意喚起」という意見が見られた (Fig. 2 【10】)。

関節型の定義・臨床所見・鑑別疾患については手引き 2007 の内容を踏襲するという意見が大多数であったが、診断に関しては「関節炎の診察法を記載」「関節エコーについて触れる」「関節炎の画像所見について詳説」「血液検査所見の読み方を記載」など多くの追記すべき内容が提案された。また、ぶどう膜炎についても記載すべきとの意見があがった (Fig. 2 【11】～【14】)。

関節型の治療については、「メトトレキサート (methotrexate: MTX) ・葉酸の投与方法」「関節破壊高リスク群で早めに治療強化を誘導」「治療前の感染症スクリーニングの重要性」に多くの意見が集まったが、それ以外では「ステロイドの位置づけ」に関する意見が多かった (Fig. 2 【15】)。

考 察

小児科専門医へのアンケート結果からは、予想より

多くの施設で JIA 診療を経験している事が判明した。また、手引き 2007 出版以降は、JIA 診療経験のある施設のほとんどで、手引き 2007 を参考に診療を継続、もしくは近隣の小児リウマチを専門とする医師/施設に紹介されており、本邦の JIA 患児の診療体制は非常に良好と思われた。また本邦における一般小児科での JIA 診療の実情からは、急性期～長期管理をカバーする、より実践的な診療マニュアルが期待されていることがわかった。

小児リウマチ診療医へのアンケート調査は、診療期間・診療患者数・資格保持の点からみて、小児リウマチ性疾患に十分精通している専門家集団による回答として問題ないと考えられた。

Fig. 2 【4】に示した ILAR の病型分類割合は、過去の小児慢性特定疾患治療研究事業(現在の小児慢性特定疾病対策事業:小慢)データベースからの報告とほぼ差異はなかった⁴⁾。ただ、小慢データベースの報告では少なかった付着部炎関連関節炎については欧米と同程度の割合でみとめられた⁵⁾。これは専門家集団による回答であるため、紹介による集積のバイアスが加

わった可能性がある。また、付着部炎関連関節炎自体早期の診断が難しく(多くは少関節炎と似た病像を呈す)、確定診断に年余を要する病型であるため、小慢データの調査対象の大部分を占めた一般医においては、この病型は過小評価されている可能性があると思われた^{5,6)}。いずれにせよ、本邦においても一定数の付着部炎関連関節炎患児が存在する事が判明したため、手引きに記載すべき内容と思われた。

JIAの分類に関しては、手引き2007同様、国際的な共通の分類であるILAR分類の採用が望ましいと思われた。自己抗体別の病型や、全身型の中で全身症状が落ち着いた後に関節炎だけが残る病型に関し項目を立てて概説する件は、手引きに採用できるほどエビデンスがない。しかし、すでに病像や予後が異なる事が報告されていることから、今後病態や治療反応性の差異に関して調査・研究が進むことを期待し、概念について手引き内で触れることが重要と考えた(なお、手引き2015では後者を「全身型発症関節炎」と呼称している)⁷⁾。

全身型を診断するにあたっては、不明熱の鑑別がきちんと出来るかが非常に重要である。MASへ移行した例では治療の遅れが致命的となるため、早期発見が重要である一方⁸⁾、十分な鑑別診断がなされないまま治療が開始されてしまうと、一気に病像が変わってしまう。そのため、できるだけ治療前に鑑別検査を済ませておくことが重要であり、しばしば医療者は時間との闘いでジレンマに陥る。そのため専門家集団の意見としても、全身型の症候・診断に関しては「紅斑」「IL-18高値」「PET/ガリウムシンチグラフィーで骨髄に集積」という全身型に特異性の高い所見が重要項目に挙げられた。施行できる施設に限られる後2項目とは異なり、紅斑の視診は初期診療に非常に重要であるため、写真による視覚情報が必要と思われた。熱の上下と共に、時に場所を変え、極めて短時間に出現・消退を繰り返す evanescent erythematous rash (即時消退紅斑性皮疹)は、見慣れると特徴的な症状で、「瞬間移動した」と表現する児がいるほど、“つかの間の”皮疹である。多様な薬剤が使われている場合は“薬疹”と間違えられることが多い。ILAR分類における全身型の定義で、随伴症状のうち第一番目にあげられている「紅斑」について、多くの小児リウマチ診療医が重要であると述べている事実は非常に興味深い。

全身型の治療に関しては、急性期を乗り切った後の

治療について記載が重要との意見が多く、これは小児科専門医の意見とも合致している。さらに専門家集団は、治療開始後のMAS移行についても注意喚起を促している。例えば全身型の経過途中でMASを発症するような症例では、ステロイドパルス施行後に一旦鎮静化した炎症マーカーが、次のパルス直前には前回以上に上昇していることを経験する。全体的な流れで判断しなければ、MAS発症に気づくのが遅れる可能性があり、MASに関しては繰り返しの注意喚起が重要と考えた。

関節型の症候・診断に関しては、一般小児科医にはなじみの少ない関節の触診方法や関節炎の画像所見についての詳記が必要と考えた。特に関節の診察法については文章で表すより動画による説明が適切と判断した(現在日本リウマチ学会のホームページに掲載 <http://www.ryumachi.jp/publication/book/jia.html>)。少関節炎・抗核抗体陽性患児が欧米の半数以下である本邦においては、JIAに合併するぶどう膜炎の合併率は10%以下であるが⁹⁾、多くは無症候性で治療が遅れると失明率が高い疾患である⁹⁾。ゆえに初期診療の手引きとしては、病態ごとのぶどう膜炎の発症リスクに応じた定期的な眼科検診の間隔を推奨するなど、早期発見のための具体策を提示する必要があると考えた。

関節型の治療については大幅な改定が必要と思われた。大枠は米国リウマチ学会(American College of Rheumatology: ACR)の推奨治療2011¹⁰⁾に準じ、ILAR分類によらない治療アルゴリズムをたて、そこに関節破壊リスクを加味する方法が提案された。ACRでは罹患関節数でチャートを分けているが、小児科医が関節注射をする習慣のない本邦医療現場の実情と、罹患関節数の正確な同定は非専門医には困難であること、少関節炎であっても難治性の関節炎が存在することなどから、関節数でフローを分ける意義は少ないと考えた。関節破壊に関しては過去に高リスクと文献報告されている条件を掲げ、高リスク群では早期ステップアップが可能な方法を考えた。また、ステロイドに関しては「不要」「短期間のみ少量」との意見が半数ずつであったが、概ね「長期、漫然と、中等量以上は使用すべきでない」という意見で統一されていた。エビデンスという点では一定の見解がまだないため、オプション的な扱いで残す措置をとった。

感染症スクリーニングや治療中の感染症管理につい

ては、専門家集団から多くの意見が寄せられ、運動指導や画像検査間隔などと共に、長期管理法として新たな項を設ける必要があると考えた。全身型のMAS、関節型のぶどう膜炎や慢性感染症合併JIAは、初期診療の範囲を超える部分だが、経過中常時注意を払うべき病態であるため、「どう注意すべきかを記載すべき」との意見があり、手引き内で詳しく触れる必要があると考えた。

まとめ

小児科専門医・小児リウマチ診療経験豊富な医師へのアンケート結果からは、ともにJIA診療のマニュアル的な手引きの必要性・重要性が明らかとなった。また、手引きの改定作業に対し有益な情報が得られただけでなく、日本におけるJIAの診療実態が垣間見える貴重な結果を得ることができた。

謝辞

本ワーキンググループを代表し、貴重な時間を今回のアンケート調査協力に充てていただいた日本小児科学会認定専門施設の小児科代表、日本小児リウマチ学会運営委員、日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会委員の諸先生方に深謝申し上げます。また、当アンケート調査の実施にあたり、日本リウマチ学会事務局 平山鉦哲氏に多大なるご協力をいただき、この場を借りて御礼申し上げます。

文献

- 1) Fink CW. Proposal for the development of classification criteria for the idiopathic arthritides of childhood. *J Rheumatol*. 1995;22:1566-1569.
- 2) 武井修治. 小児慢性特定疾患治療研究事業を利用した小児慢性疾患に関するデータベース作成とそれ以外の登録シス

テムの統合に関する研究 Capture-recapture法による若年性関節リウマチJIAの疾患頻度の推定. 厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)分担報告書, 2007; 129-133.

- 3) 横田俊平, 森 雅亮, 今川智之, 武井修治, 村田卓士, 富板美奈子, 伊藤保彦, 藤川 敏. 若年性特発性関節炎初期診療の手引き(2007年). *日本小児科学会雑誌* 2007;111:1103-1112.
- 4) 武井修治, 山下早苗, 加藤忠明. 小慢データを利用した若年性特発性関節炎 JIAの二次調査. 厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)分担報告書, 2008; 102-113.
- 5) Shirley MLT, Petty RE. ENTHESITIS RELATED ARTHRITIS. In *Textbook of Pediatric Rheumatology*, 7th Edition. Eds. Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, Wedderburn LR. Elsevier, Philadelphia. 2015; 238-255.
- 6) Burgos-Vargas R. The assessment of the spondyloarthritis international society concept and criteria for the classification of axial spondyloarthritis and peripheral spondyloarthritis: A critical appraisal for the pediatric rheumatologist. *Ped Rheumatol*. 2012;10:14. doi:10.1186/1546-0096-10-14.
- 7) 一般社団法人日本リウマチ学会 小児リウマチ調査検討小委員会編集. 若年性特発性関節炎初期診療の手引 2015. メディカルレビュー社, 大阪, 2015.
- 8) 横田俊平, 武井修治監修. 若年性特発性関節炎 トシリズマブ治療の理論と実際 2009. メディカルレビュー社, 大阪, 2009:17-23.
- 9) Heiligenhaus A, Michels H, Schumacher C, Kopp I, Neudorf U, Niehues T, et al. Evidence-based, interdisciplinary guidelines for anti-inflammatory treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2012;32:1121-1133.
- 10) Beukelman T, Patkar NM, Saag KG, Tolleson-Rinehart S, Cron RQ, DeWitt EM, et al. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. *Arthritis Care Res*. 2011;63:465-482.

日本小児リウマチ学会推薦総説

若年性特発性関節炎診療・管理ガイドンス

大阪医科大学大学院医学研究科泌尿器生殖・発達医学講座小児科

岡本 奈美

要 旨

若年性特発性関節炎は小児の原因不明の慢性関節炎である。放置すれば関節破壊や臓器障害を起こす難治性の疾患であり、早期発見・早期治療介入が肝要である。2007年に本学会誌で若年性特発性関節炎初期診療の手引きが発表されたが、その後治療面でメトトレキサート、3剤の生物学的製剤が承認適応となった事、診断面で各種サイトカインや新しい画像診断法などの有用性が示されて来た事、病態面で遺伝的要因について関連が報告された事など、短期間に目まぐるしく進展を遂げた。このような医療環境の変化をうけ、2015年に我々は改訂版として「若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2015」を上梓した。

ここでは、若年性特発性関節炎について、最新的话题に触れつつ診断・治療を概説するとともに、今回の手引きの改定ポイントについても解説する。

キーワード：若年性特発性関節炎 (JIA)、マクロファージ活性化症候群 (MAS)、ぶどう膜炎、メトトレキサート (MTX)、生物学的製剤

はじめに

George Frederic Still 博士 (1868~1941) は 1897 年大学院の博士論文として “On a Form of Chronic Joint Disease in Children” を発表し¹⁾、「こどものリウマチ」についての概念を初めてうちだした。彼の名前から小児のリウマチを「Still's disease」と呼んだ時期もあったが、その後時代・地域により小児の慢性関節炎に対する呼び名は大きく変遷し、「若年性関節リウマチ (Juvenile Rheumatoid Arthritis: JRA) : 主に米国や日本で使用」と「若年性慢性関節炎 (Juvenile Chronic Arthritis: JCA) : 主に欧州で使用」が混在するようになる。その定義も、発症からの期間 (6 週間 vs. 3 か月) や含まれる病型数 (3 病型 vs. 6 病型) が異なっていたため、小児の慢性関節炎の病態・治療研究は議論が噛み合わず、なかなか進捗しなかった。そこで、国際的に統一し、疫学研究にも耐えうる分類基準として、国際リウマチ学会 (International League of Associations for Rheumatology: ILAR) から「若年性特発性関節炎

(Juvenile idiopathic arthritis: JIA) 分類基準」が提唱された^{2)~4)}。

残念ながら現在 Still 博士の名前は「成人 Still 病」という内科領域の病名を残すのみとなったが、実は Still 博士はこれ以外にも多くの小児科学に関する功績を残し、英国初の小児科教授に就任している。周期性嘔吐症、新生児無呼吸症候群、注意欠陥多動性障害、肥厚性幽門狭窄症などの疾患概念の礎を確立した偉大な人物であり、まさに我々にとっては「小児科学の父」と呼ぶにふさわしい存在である⁵⁾。

JIA そのものは決して頻度の高い疾患ではないが、放置すれば関節破壊が進行し、日常生活への支障の大きい難治性疾患であることから、早期発見・早期治療介入が重要である。そのため標準化された診断・治療指針が必要となり、以前日本小児科学会雑誌に日本小児リウマチ学会の分科会報告として「若年性特発性関節炎 初期診療の手引き (2007 年)」が掲載された⁶⁾。それから 8 年の歳月が経ち、JIA 研究の進歩や治療の発展に則した改定が必要となり、昨年日本リウマチ学会と協力して「若年性特発性関節炎 初期診療の手引き 2015 (以下、2015 年改訂版手引き)」を上梓した⁷⁾。2015 年改訂版手引き作成にあたっては、日本小児科学会認定小児科専門医や日本小児リウマチ学会運営委員の諸

連絡先住所：〒569-8686 高槻市大学町 2-7
大阪医科大学大学院医学研究科泌尿器生殖・
発達医学講座小児科 岡本 奈美

表1 JIA 分類 (ILAR Edmonton 改訂 2001)

分類	定義	除外
全身型	1 か所以上の関節炎と 2 週間以上続く発熱 (うち 3 日間は連続する) を伴い、以下の徴候を 1 つ以上伴う関節炎。 1) 暫時の紅斑、 2) 全身のリンパ節腫脹、 3) 肝腫大または脾腫大、 4) 漿膜炎	a, b, c, d
少関節炎	発症 6 か月以内の炎症関節が 1~4 か所に限局する関節炎。以下の 2 つの型を区別する。 (a) 持続型: 全経過を通して 4 か所以下の関節炎。 (b) 進展型: 発症 6 か月以降に 5 か所以上に関節炎が見られる。	a, b, c, d, e
RF 陰性多関節炎	発症 6 か月以内に 5 か所以上に関節炎が及ぶ型で、リウマトイド因子 (Rheumatoid Factor: RF) が陰性。	a, b, c, d, e
RF 陽性多関節炎	発症 6 か月以内に 5 か所以上に関節炎が及ぶ型で、リウマトイド因子が 3 か月以上の間隔で測定して 2 回以上陽性。	a, b, c, e
乾癬性関節炎	以下のいずれか。 1) 乾癬を伴った関節炎 2) 少なくとも次の 2 項目以上を伴う例 (a) 指趾炎 (b) 爪の変形 (点状凹窩、爪甲剥離など) (c) 親や同胞に乾癬患者	b, c, d, e
付着部炎関連関節炎	以下のいずれか。 1) 関節炎と付着部炎 2) 関節炎あるいは付着部炎を認め、少なくとも以下の 2 項目以上を伴う例 (a) 現在または過去の仙腸関節の圧痛±炎症性の腰仙関節痛 (b) HLA-B27 陽性 (c) 親や同胞に強直性脊椎炎、付着部炎関連関節炎、炎症性腸疾患に伴う仙腸関節炎、Reiter 症候群または急性前部ぶどう膜炎のいずれかの罹患歴がある (d) しばしば眼痛、発赤、羞明を伴う前部ぶどう膜炎 (e) 6 歳以上で関節炎を発症した男児	a, d, e
未分類関節炎	6 週間以上持続する小児期の原因不明の関節炎で、上記の分類基準を満たさないか、または複数の基準に重複するもの。	

除外項目:

- 患児や親・同胞での乾癬罹患や乾癬既往歴
- 6 歳以降に発症した HLA-B27 陽性の関節炎男児
- 強直性脊椎炎、付着部炎関連関節炎、炎症性腸疾患に伴う仙腸関節、Reiter 症候群または急性前部ぶどう膜炎のいずれかに罹患しているか、親・同胞に罹患歴がある
- 3 か月以上の期間において少なくとも 2 回以上の IgM-RF 陽性
- 全身型 JIA

先生方にアンケート形式で意見を募り⁸⁾、それを反映した実践的な手引きに仕上がっている。ここでは JIA という疾患について、また手引きの改定ポイントについて現在の医療情勢を加味しつつ解説する。

JIA の定義

1995 年 Finc らは JIA を「16 歳の誕生日以前に発症した、原因不明の 6 週間以上続く慢性関節炎で、他の要因によるものを除外する」と定義した²⁾。つまり、特異な臨床所見や検査所見がないため、鑑別診断が重要となる。

JIA の ILAR 分類

1995 年に提案された後、2 度の改訂が行われ、現在は 2001 年 Edmonton 版が最新である^{3,4)}。ILAR 分類では発症後 6 か月の時点で JIA を 7 病型に分類する (表 1)。

ILAR 分類は疫学・病態など臨床研究を目的に作成されたものだが、その病態の違いは治療や予後に反映されるため、この分類で整理すると理解しやすい。現在全身型 JIA は成人 Still 病との相同性が報告されている。付着部炎関連関節炎や乾癬性関節炎は、脊椎関

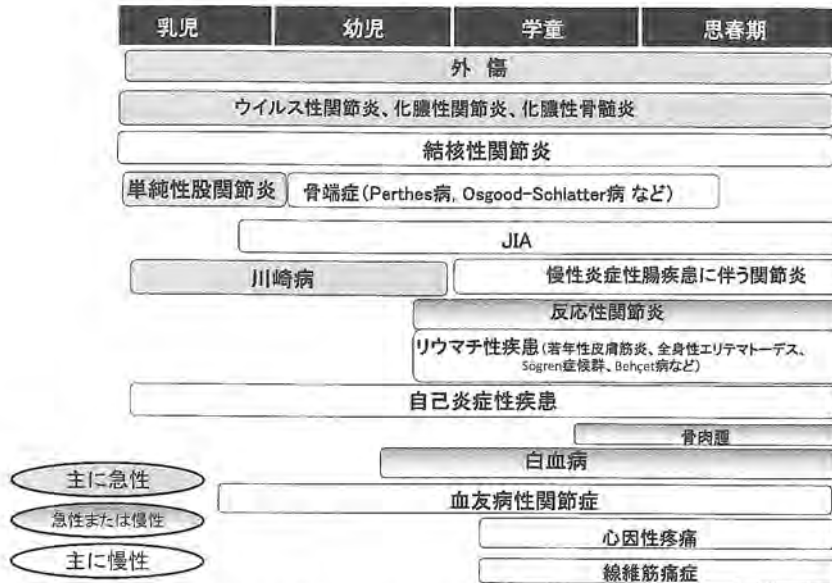


図1 小児の関節痛・関節炎の鑑別診断(好発年齢別)
 (著者作成, 頻度の高いものを述べたため, 記載のない疾患を否定するものではない)

関節炎に内包される概念である。注意点として、少関節炎の定義を満たすがリウマトイド因子陽性の症例は未分類関節炎に分類される事、経過中に新たな所見が出現することがあるため途中で病型の再評価を行う必要がある事があげられる。2015年改訂版手引きでは、原文に忠実な翻訳をし、2007年版とは病型名や定義が異なっている。なお、本邦におけるJIA診療の実情を鑑み、以下の2点を追加した。

全身型は病態や治療反応性の違いから他の6病型と区別して論じられる事が多く、本邦では全身型以外の6病型を「関節型JIA」と呼ぶ。また、全身型で発症し全身症状が消退したのちに遷延する関節炎は、関節型JIAの関節炎と病態・治療反応性が異なるため、「全身発症型関節炎」と呼ぶ。

JIAの診断・鑑別診断

まずは“慢性”の“関節炎”の存在を明らかにする。小児の関節痛・関節炎の原因となる代表的な疾患を図1に示す。

関節の診察方法については日本リウマチ学会のホームページに参照動画を掲載した(<http://www.ryumachi.jp/publication/book/jia.html>)。

全身性炎症を主徴とする場合は、「不明熱の鑑別」に準じた鑑別手法を講ずる。

1) 関節炎/付着部炎の鑑別

① 痛みの部位は関節か?

乳児では「歩きたがらない」「歩き方が普段と違う」「触ると嫌がる」といった症状で気づかれる事が多い。

家人もまさかこどもがリウマチになると想像できず、当初「甘え」や「怪我」と思っている場合がある。元気な時の様子と比べて「何ができないか」「何を嫌がるか」「どんな時に症状が強くなるか」を確認する事で病変の部位や性状の推定に役立つ。常に関節以外の病変や、筋疾患(炎症性筋疾患など)・神経疾患(sensory neuropathy with painなど)・代謝性疾患(Fabry病など)などの可能性も考慮して、詳細な問診や触診を行う。

② 関節痛のみか? 関節腫脹・熱感・発赤・可動域制限を伴うか? 単関節か、多関節か?

炎症ではない関節痛・四肢痛では、白血病に注意が必要である。安易に診断前にグルココルチコイド(glucocorticoid: GC)を使用することは避ける(症状をマスクしてしまう)。末梢血や骨髓穿刺液に白血病細胞が出現しない場合もあるため、骨髓液に異常がなくても強い骨痛を訴える場合は、骨シンチグラフィーを参考に骨髓生検を検討する。

血友病など凝固異常症では、関節内出血により関節痛や可動域制限が生じる事がある(MRIで血性関節液や滑膜のヘモジデリン沈着が確認できる)⁹⁾。

骨端症は、主に骨の発育期に、長管骨骨端部や扁平骨の骨化核、付着部の骨端核や成長軟骨板近傍に異常骨化や無腐性壊死が起こる疾患群である。発症には牽引や阻血が関与しているとされ、代表的な疾患にPerthes病がある。関節痛や可動域制限が出現するため、JIAとの鑑別を要す¹⁰⁾¹¹⁾。

関節破壊を伴わない可動域制限(屈曲拘縮)をみた場合、ムコ多糖症やムコリピドーシスなど先天性代謝

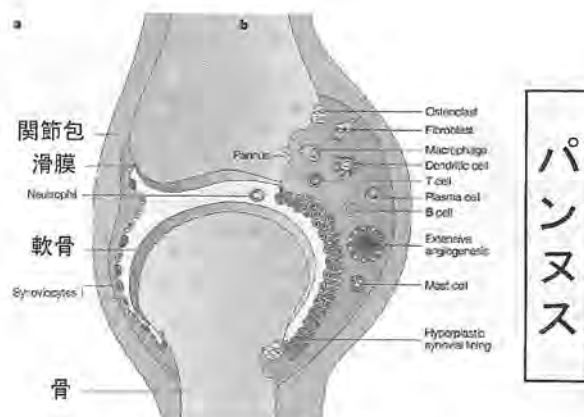


図2 関節炎の模式図

a. 正常関節

b. リウマチ性疾患の滑膜炎を生じた関節。関節滑膜 (synovium) が増殖・肥厚して、炎症細胞・破骨細胞・繊維芽細胞などを豊富に含むパニヌス (pannus) を形成、骨・軟骨に浸潤して関節破壊をひき起こす。

(Smolen JS et al. Nature Reviews Drug Discovery 2003 ; 2 : 473-488 より引用)

異常症の鑑別が必要となる¹²⁾。冬季に指趾の腫脹や痛みが生じる疾患に、microgeodinic disease/syndromeという寒冷暴露による骨の微小循環障害がある。X線では骨吸収、MRIでは骨髓炎像を呈するためJIAとの鑑別が重要である¹³⁾。また、痛みを伴わない持続性の腫脹には patchy dermodactyly という、皮膚に機械的刺激が繰り返し加わることで関節周囲の真皮に肥厚を生じる疾患がある(確定診断は皮膚生検)¹⁴⁾。腫脹・疼痛なく可動域制限のみの場合は、関節内の良性腫瘍の可能性もある。このように、疼痛・腫脹・熱感・発赤・可動域制限の組み合わせによって鑑別疾患が広範囲に亘るため、時に皮膚疾患や整形外科的疾患も念頭におき、他科とも連携して診療を進める必要がある。

関節の炎症が寡少な場合は、視診・触診のみでは関節痛と関節炎の区別は困難である。そのため、炎症の確認には、画像診断が重要である(詳細は次項参照)¹⁵⁾。

③関節炎の画像診断

JIAの関節炎は、関節内にある厚さ約0.01~0.02mmの滑膜が炎症を起こす事から始まる(図2)。炎症が持続すると滑膜が絨毛状に増殖・肥厚し周囲の軟骨・骨に浸潤してパニヌスを形成する。単純X線は簡便で骨の変化を捉えるには有用だが(図3)、滑膜・軟骨病変は捉える事ができず、初期は異常がでにくい。核磁気共鳴画像法(magnetic resonance imaging; MRI)はもっとも鋭敏に関節炎を捉える事ができ、特にガドリニウム造影をすることにより、単純MRIではわからない程度の滑膜炎も映し出す事が可能である(図4)。3次元構造の複雑な関節や骨内部の観察にも向いており、特に骨髓浮腫像は骨への炎症浸潤を示唆し、関節破壊のリスクを意味する。ただし、同時に複数関節は

評価できず、幼児では鎮静が必要な点、アーチファクトが存在する点に注意が必要である。

近年多くの臨床現場で施行されるようになった関節エコー(筋骨格超音波検査)は、簡便で鎮静が不要で炎症を捉えやすいうえ、多関節を同時に評価できるメリットがある(図5)。臨床所見に乏しく、エコーで初めて同定される関節炎が存在することもわかってきた。しかし機器・技術者による差異が大きいこと、小児では年齢による差が大きく正常血管の個体差も大きいことなどが問題点としてあげられる。侵襲がなく、リアルタイムで同時期に複数関節が観察できる関節エコーは、今後ますます需要が高まると予想されており、今後研究結果の蓄積が待たれる。

コンピューター断層撮影法(Computed Tomography; CT)は骨の変化を3次元で捉える事ができるため、脊椎や骨盤など2次元で捉えにくい部位の観察に有用である(図6-a)。しかし、被曝量が大きいことから最小限の使用にとどめるべきである。ガリウムシンチグラフィや陽電子放射断層撮影(Positron Emission Tomography; PET)¹⁶⁾では炎症関節への集積を認めるが(図6-b, c)、骨幹など他部位に集積する場合は骨髓炎や白血病など他の疾患を疑う(関節炎の診断のためだけにこれらを行うわけではなく、あくまでも鑑別診断のためである。ただし鑑別診断目的のPET検査は保険適応外)。

以上、関節炎の画像検査についてはそれぞれの特性を熟知した上で総合的に評価する事が肝要である(表2)。

④急性か?慢性か?

急性・慢性については通常6週を超えるかどうかで



図3 関節炎の画像（単純X線）

- 頸部右側面画像。頸部を前屈させた時の環椎歯突起間距離（環椎前弓後下部から歯突起前縁の距離）で、環軸椎亜脱臼の有無を評価する。小児の正常値は1～4mmである。
- 左第2指中指指節間関節に裂隙狭小化、骨びらん、亜脱臼、第3指中指指節間関節に裂隙狭小化と骨びらんを認める。
- 手根骨間（大小菱形骨、有頭骨、有鈎骨、舟状骨）、手根骨と中手骨間に骨融合による骨性強直が見られる。

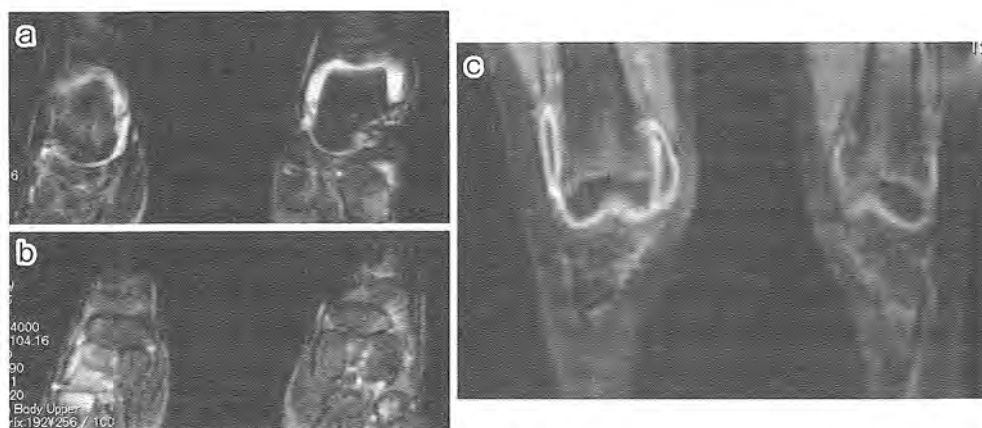


図4 関節炎の画像（MRI）

- 足関節単純 T2 強調画像。両側距腿関節とその周囲に高信号域が見られ、関節液が貯留している。
- a よりやや遠位のスライス。右踵骨・立方骨内に高信号域が見られ、骨髓浮腫が示唆される。
- 膝関節カドリニウム造影。特に右膝関節上部に強い滑膜肥厚と造影効果を認める。

区別する。急性の関節炎の代表には感染症や外傷、あるいは感染症後の反応性関節炎がある。問診や画像所見、血液検査（白血球数と分画、炎症反応、プロカルシトニン、各種感染症抗体価など）、関節液検査、培養検査などのアプローチを行う。

近年罹患者数は減ってきたものの、見逃してはならない疾患に急性リウマチ熱（acute rheumatic fever：ARF）がある。2015年には心エコー所見を加味した2015改定版 Jones criteria が発表された¹⁹⁾（表3）。診断がつけば、長期の抗菌剤予防内服など特有の管理が必

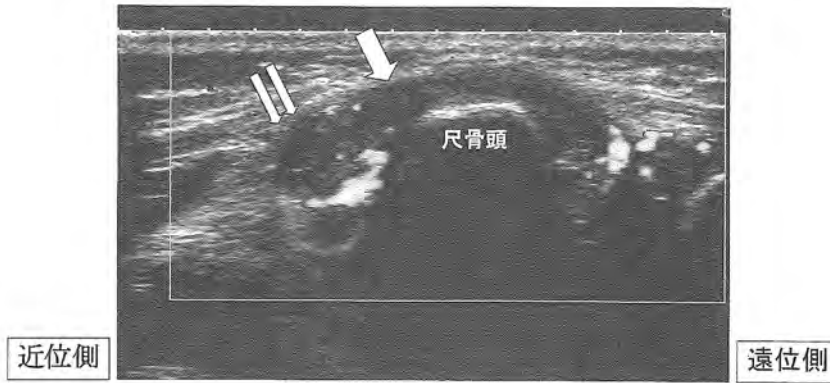


図5 関節炎の画像（関節エコー）

肘関節の長軸像パワードブラ法。右側が遠位端、左側が近位端である。著明な関節滑膜肥厚（太矢印）、関節液貯留（細矢印）と、異常血流（ドブラ部位）を認める。

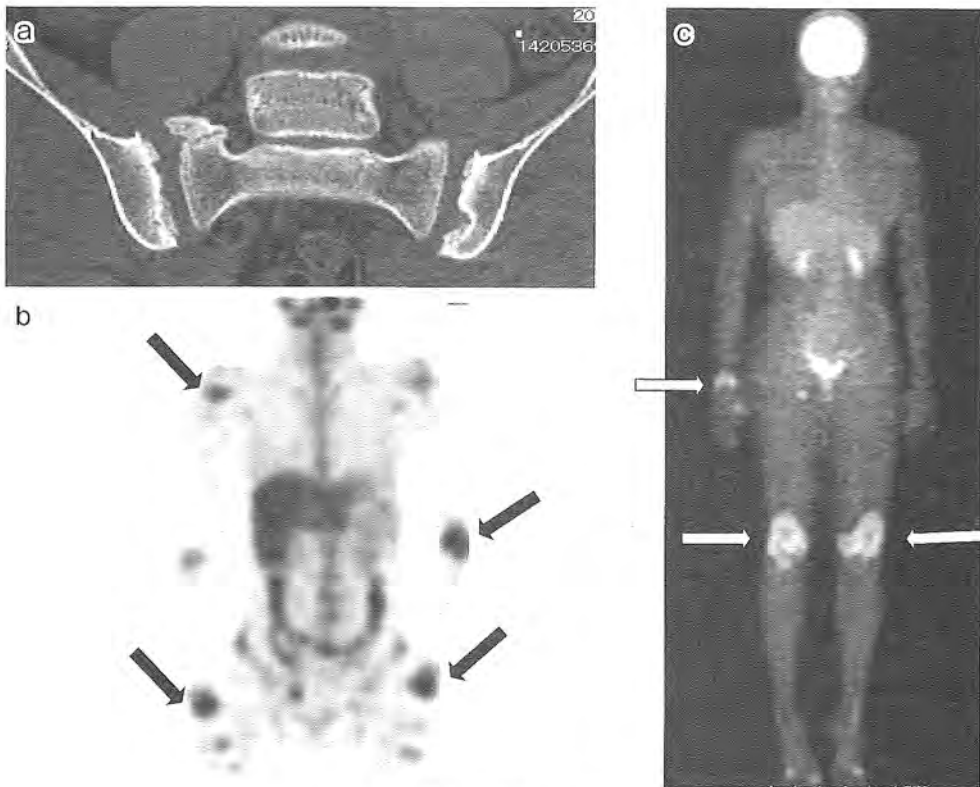


図6 関節炎の画像（その他）

- a. CT検査，仙腸関節縦断面，両側腸骨側にびらんを認める。
- b. ガリウムシンチグラフィ，右肩，左肘，両手関節に集積を認める
- c. PET-CT，文献16より引用，両側膝関節，右手関節に集積を認める。

要となるため，溶連菌感染の確認および ARF の鑑別は重要である。

⑤付着部炎を伴うか？

腱・靭帯・筋膜・関節包が骨に付着する部位の炎症を付着部炎と呼ぶ¹⁷⁾。小児では運動による牽引性の付着部障害(Osgood-Schlatter 病，足底筋膜炎，野球肘，テニス肘など)をしばしば認めるが，そういったエビ

ソードなく多発性に付着部炎を認める場合はリウマチ性疾患による付着部炎を鑑別する。図7に代表的な関節炎と付着部炎の診察図を示す。付着部炎の診断は関節周囲の付着部に限局する圧痛または腫脹により診断するが，圧痛以外の所見が出にくい事も多いため線維筋痛症との鑑別が問題となる。JIA の付着部炎は当初四肢関節周囲(特に下肢)に出現する末梢性が多いが，

表2 関節炎評価に対する各種画像検査の特性

長所	短所
単純X線・CT検査 ・簡便・安価 ・骨病変の評価に有用（関節破壊の指標）	・被曝がある ・急性期には変化がでにくい
MRI ・炎症の評価に最も鋭敏（滑膜炎, 骨髄炎, 付着部炎） ・被曝がない	・施設に限られる ・高価 ・複数関節の同時評価に不適 ・幼少児では鎮静必要 ・アナフィラキシー（造影） ・アーチファクトがある
関節エコー ・MRIの次に炎症の評価に有用（特にパワードブラ） ・鎮静・造影不要 ・安価 ・被曝がない ・複数関節の同時評価が可能	・深部の観察は不可 ・骨の評価には向かない ・ハード面・術者の技術による差異が大きい ・小児では正常所見がまだ確立されていない（栄養血管のドブラ）

表3 2015改訂版 Jones criteria（急性リウマチ熱の診断基準）

A. A群レンサ球菌の先行感染が確認された全ての患者群 初発：主基準2所見 または 主基準1所見+副基準2所見 再発：主基準2所見 または 主基準1所見+副基準2所見 または 副基準3所見	
B. 主基準 1) 低リスク地域# ・心炎（臨床的 and/or 無症候性*） ・関節炎（多関節炎のみ） ・舞蹈病 ・有緑性紅斑 ・皮下結節	
2) 中～高リスク地域# ・心炎（臨床的 and/or 無症候性*） ・関節炎（単・多関節炎, 多関節痛） ・舞蹈病 ・有緑性紅斑 ・皮下結節	
C. 副基準 1) 低リスク地域# ・多関節痛† ・発熱（ $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ ） ・ESR $\geq 60\text{mm/h}$ and/or CRP $\geq 3.0\text{mg/dl}$ § ・PR間隔が年齢の基準値より延長（心炎がない場合のみ）	
2) 中～高リスク地域# ・単関節痛† ・発熱（ $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ ） ・ESR $\geq 30\text{mm/h}$ and/or CRP $\geq 3.0\text{mg/dl}$ § ・PR間隔が年齢の基準値より延長（心炎がない場合のみ）	

#低リスク地域：急性リウマチ熱（ARF）有病率が学童10万人当たり2人 \geq 、またはARFによる心疾患の有病率が全小児人口1000人当たり1人 \geq

*無症候性心炎：心エコードブラで同定された弁膜炎（下記のいずれか）

病的僧帽弁閉鎖不全（4つすべての条件を満たす）

- ・少なくとも2断面で認める
- ・逆流ジェット長が少なくとも1断面で $\geq 2\text{cm}$
- ・最大血流速度 $> 3\text{m/s}$
- ・逆流のドブラ信号の輪郭を少なくとも1心拍で全収縮期にわたりトレースできる

病的大動脈弁閉鎖不全（4つすべての条件を満たす）

- ・少なくとも2断面で認める
- ・逆流ジェット長が少なくとも1断面で $\geq 1\text{cm}$
- ・最大血流速度 $> 3\text{m/s}$
- ・逆流のドブラ信号の輪郭を少なくとも1心拍で全拡張期にわたりトレースできる

†関節症状は、主基準・副基準いずれかのみで採用

§経過中の最高値を採用

経年的に脊椎棘突起周囲の圧痛や仙腸関節の圧痛が出現し、体軸性に伸展する症例もある。炎症が顕著であ

れば関節エコーやMRIにて炎症所見を捉える事ができるが、発症早期には画像所見の出ない場合も多く、

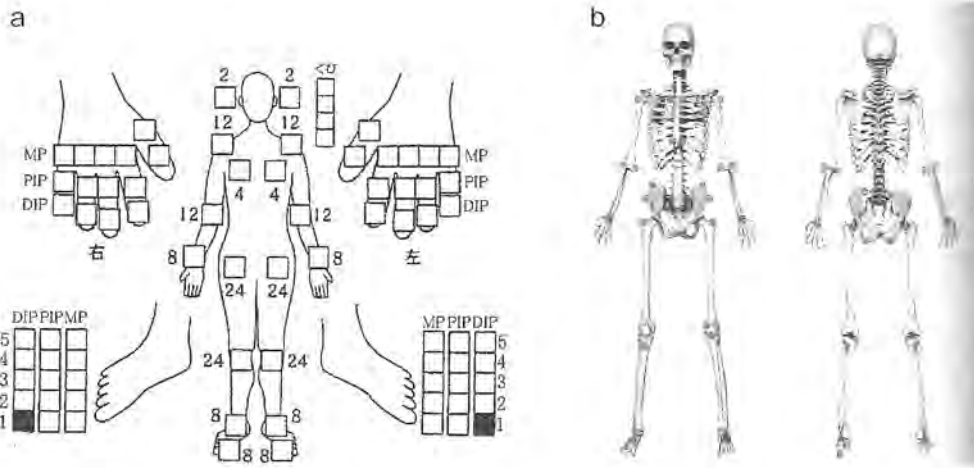


図7 関節炎・付着部炎の診察図

- a. 主な全身の関節図。例えば、腫脹=○、疼痛=×、可動域制限=△など診察所見を決めて書き込む。
- b. 主な全身の付着部図。文献17, Section2, Chapter19より引用。臨床的に付着部に限局する圧痛や腫脹により診断する。

表4 慢性関節炎/付着部炎を生じうるリウマチ性疾患・自己炎症性疾患

	SLE	JSS	JDM	MCTD	血管炎 症候群	BD	FMP	HIDS	BLAU/ EOS	CAPS	PFA- PA	TRAPS
発熱	◎	△	△	○	◎	○	◎	◎	○	◎	◎	◎
紅斑/皮疹	◎	△	◎	○	◎	◎	◎	◎	○	◎	—	◎
筋痛	—	△	◎	△	△	—	—	—	—	—	△	◎
腹痛	△	—	—	△	△	△	○	◎	—	—	△	◎
頭痛	○	△	—	△	△	△	△	—	—	○	△	—
関節症状	◎	○	○	◎	○	○	○	◎	◎	◎	—	◎
付着部炎	—	○	—	—	—	○	—	—	—	—	—	—

◎：よく認める，○：しばしば認める，△：時に認める，—：稀またはデータなし

SLE：全身性エリテマトーデス，SS：Sögren 症候群，JDM：若年性皮膚筋炎，BD：Behçet 病，FMP：家族性地中海熱，HIDS：高IgD 症候群，Blau/EOS：Blau 症候群/若年性サルコイドーシス，CAPS：クリオピリン関連周期性症候群，PFAPA：周期性発熱・アフタ性口内炎・咽頭炎・頸部リンパ節炎症候群，TRAPS：TNF 受容体関連周期性症候群

参照：

- ・武井修治：小児全身性エリテマトーデス（SLE）の難治性病態と治療に関する研究。小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態の診断と治療に関する研究。平成22年度総括研究報告書。2011：74-78。
- ・富板美奈子：シェーグレン症候群。小児科臨床。2013；66：873-879。
- ・小林法元：若年性皮膚筋炎（JDM）の難治性病態と治療に関する研究。小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態の診断と治療に関する研究。平成22年度総括研究報告書。2011：79-84。
- ・梅林宏明：小児における混合性組織病（MCTD）の難治性病態と治療に関する研究。小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態の診断と治療に関する研究。平成22年度総括研究報告書。2011：91-95。
- ・Khanna G, et al.：Pediatric vasculitis：recognizing multisystemic manifestations at body iaging. Radiographics. 2015；35：849-865。
- ・Koné-Paut I, et al.：Registries in rheumatological and musculoskeletal conditions. Paediatric Behçet's disease：an international cohort study of 110 patients. One-year follow-up data. Rheumatology. 2011；50：184-188。
- ・井田宏明，西小森隆太。自己炎症症候群の臨床。新興医学出版社。東京。2015。

（上記を基に，当科症例の所見を参考として著者作成）

診断が難しい病態である。

⑥慢性関節炎/付着部炎の鑑別疾患

上記に従い，“慢性”の“関節炎/付着部炎”が判明すれば「特発性（＝原因不明）」であることを確認する。

リウマチ性疾患・自己炎症性疾患の多くは関節症状を呈しうるため，これらの鑑別が重要である。代表的な疾患を表4に示す。リウマチ性疾患・自己炎症性疾患それぞれの診断基準を満たすかどうか確認を行う（小

表5 不明熱の鑑別チャート

問診	既往歴, 海外渡航歴, ペット飼育歴, 食事摂取状況, 薬物摂取状況, アレルギー歴, 心理社会背景, 居住地状況など
熱型	間欠熱, 稽留熱, 弛張熱など
随伴症状	皮膚症状, 関節症状, 呼吸器症状, 消化器症状など
理学的所見	皮膚, リンパ節, 肝脾など腹部, 関節, 心音, 肺雑音, 神経学的所見, 眼, 聴力など
血液検査(一般)	末梢血白血球数, 一般生化学, C反応性蛋白, 血液沈降速度, 凝固系, 免疫グロブリン, 補体, FT3, FT4, TSH, 血液培養, 血液ガス分析
血液検査(特殊)	自己抗体, フェリチン, マトリックスメタロプロテイナーゼ-3, 血中 $\beta 2$ ミクログロブリン, KL-6, 可溶性IL-2受容体, 血清アミロイドA, 各種微生物抗原・抗体価(マイコプラズマ, EBウイルス, サイトメガロウイルス, リケッチア, パルトネラ, デングウイルスなど), β -Dグルカン, 結核菌特異的IFN- γ 遊離試験など
尿検査	一般検尿, 尿培養, 尿化学, 尿中NAG, 尿中 $\beta 2$ ミクログロブリン
便検査	便中ヘモグロビン, 便鏡(微生物, 好酸球), 便培養, 寄生虫卵検査など
骨髓検査	骨髓穿刺, 骨髓生検など
その他穿刺液	関節液(一般・生化, 培養), 髄液(一般・生化, 培養), 膿瘍(培養)など
ぬぐい液など	微生物迅速検査, 培養検査, PCRなど
画像検査	単純X線, 超音波検査(胸腹部), 造影CT検査(胸腹部), MRI検査(頭部, MRA, 大腿), シンチグラフィ(ガリウム, 骨), FDG-PET(保険未収載)
その他一般	ツベルクリン反応, 病理診断(病変部位)
その他特殊検査(研究室レベル)	血清サイトカイン(IL-18, IL-6), 尿中メバロン酸, 遺伝子検査, 便中カルプロテクチン

児慢性特性疾病情報センターのホームページを参照。<http://www.shouman.jp/>). 各々の特異検査や自己抗体検査などを施行するが, リウマトイド因子(rheumatoid factor: RF)は多くのリウマチ性疾患で陽性を示すことがあるため, それのみでは診断に至らない。また, これらの関節炎・附着部炎に関して画像上特異な所見はなく, 画像のみでは鑑別はできない。

2) 不明熱の鑑別診断

発熱, リンパ節腫脹, 発疹など全身性炎症を主体とする場合は, 不明熱の鑑別診断を行う。表5に不明熱を診る場合のチェックリストを挙げた。ここに述べた全てを最初から全例に行うわけではなく, まずは問診・診察・一般スクリーニング検査を施行し, その結果で確定診断がつかなかった場合に, 疑う疾患の発症頻度や検査の侵襲度と優先性を考慮しつつ特殊検査に歩を進めていく。

①熱型

全身型JIAに特徴的とされる熱型は「毎日生じる間欠熱(intermittent fever)」である³⁾⁻⁴⁾¹⁷⁾。ただし, マクロファージ活性化症候群(後述)を合併した場合や薬剤の影響により, 弛張熱(remittent fever)や稽留熱(continuous fever)など他の熱型をとりうる事もあるため, 間欠熱でないことが全身型JIAを否定するわけではない。なお, 関節型JIAでも20~40%に発熱を認める¹⁸⁾。

*間欠熱: 日差が1度以上あり, 自然に平熱になる発熱

*弛張熱: 日差が1度以上あるが平熱になることはほとんどない発熱

*稽留熱: 日差が1度を超えない持続性の発熱

②皮膚症状

全身型の皮膚所見は, evanescent erythematous rash(即時消退紅斑性皮疹)といい²⁾⁻⁴⁾¹⁷⁾, 熱の上下と共に, 時に場所を変え, 極めて短時間に出現・消退を繰り返す, “つかの間の”皮疹である(図8)。通常は掻痒を伴わないが, 年長児では掻痒感を伴い, 蕁麻疹様となる場合もある。

3) 生体試料検査の捉え方(表6参照)

①炎症

炎症を示す項目には, 末梢血の白血球数上昇(核の左方移動を伴わない), 血小板数上昇, C反応性蛋白(CRP)高値, 血液沈降速度(ESR)亢進, 血清アミロイドA上昇, 補体価上昇, 免疫グロブリン上昇, 凝固線溶系亢進などがある。しかし疾患特異性はなく, 関節型では正常~軽度上昇にとどまる事も多い(表6)。

②高サイトカイン血症

全身型では, インターロイキン(interleukin: IL)-1, IL-18, IL-6の刺激により, インターフェロン(interferon: IFN)- γ や腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor: TNF)など種々のサイトカインが過剰産生され

る。特に IL-18 は sJIA の病態と大きく関わっており、他の全身性炎症を示す疾患に比べ著明高値であることから、鑑別診断に役立つ可能性や²⁰⁾(図 9)、無治療寛解の予測マーカーとしての可能性も示唆されている²¹⁾。IL-1 や IL-18 刺激により産生される IL-6 は病勢と相関する。全身性炎症が鎮静化していない間は高値となり、治療反応性と相関する。二次性の血球貪食症候群であるマクロファージ活性化症候群を合併すると、IFN、TNF など著明に上昇し、サイトカインストームと呼ばれる状態となる。ただし保険外検査であるため、これら高サイトカイン血症を反映するマーカーとして、臨床の現場では血清のフェリチン、可溶性 IL-2

受容体、β2 ミクログロブリンや、尿中 β2 ミクログロブリンが参考となる。

③自己免疫

獲得免疫が関与する病型では、血清中の RF や抗核抗体 (anti-nucleolar antibody : ANA) が上昇する事がある。RF は ILAR 分類における定義や除外項目である(表 1)。RF 陽性者の中には環状シトルリン化ペプチド (cyclic citrullinated peptide : CCP) に対する抗 CCP 抗体 (anti-CCP antibody : ACPA) 陽性のものが半数程度存在し早期の関節破壊進行のリスク因子とされている。ANA は小児では健常児で軽度陽性を示す例が多いため、160 倍以上を陽性と考え、ANA 陽性はぶどう膜炎の合併リスクと考えられており、定期観察が必要である。自己抗体は診断後の病態の違いや合併症のリスク因子の判断に用いるものであり、陽性・陰性で診断・非診断を決めるものではない。

④関節炎

関節炎を反映するマーカーに、血清中のマトリックスメタロプロテイナーゼ (matrix metalloproteinase-3 : MMP3) がある。滑膜細胞から産生されるタンパク分解酵素で、関節炎の活動性と相関する。健康小児では成人基準値の下限以下 (15ng/ml>) となることが多い点、滑膜炎があれば他の疾患でも上昇するため疾患特異性はない点、GC 投与で上昇する事がある点に注意が必要である。

⑤合併症の監視

全身型に合併する難治性病態に、マクロファージ活性化症候群 (macrophage activation syndrome : MAS) がある(後述)。全身型では常に MAS への移行



図 8 全身型 JIA の皮疹

表 6 本邦 JIA の病型別関節所見・血液検査所見

	全身型	少関節炎	RF 陰性多関節炎	RF 陽性多関節炎
男:女	1:1.2	1:2.5	1:2.2	1:8.0
発症年齢 (中央値±SD)	5.8±3.8	5.5±4.2	7.0±4.2	9.9±3.5
関節痛 (%)	75.7	94.1	100	100
関節腫脹 (%)	41.4	87.1	83.1	94.9
好発関節*	大関節 (特に肩・股関節)	大関節 (下肢)	大関節・小関節 (上下肢ともに)	大関節・小関節 (上下肢ともに)
CRP/ESR*	著明高値	正常～軽度上昇	軽度～中等度上昇	軽度～中等度上昇
MMP-3	関節炎があれば 中等度上昇	正常～軽度上昇	軽度～中等度上昇	中等度～著明上昇
RF 陽性 (%)	7.5†	0	0	100
ANA 陽性 (%)	3.2	27.3	21.6	38.5
抗 CCP 抗体陽性 (%)	0	0	0	50.0

文献 18 を基に当科のデータ*を加えて著者作成。

乾癬性関節炎、付着部炎関連関節炎、未分類関節炎に関しては本邦のデータなし

ILAR の定義では全身型は RF 陰性である為、JRA の基準で診断された症例と考える†

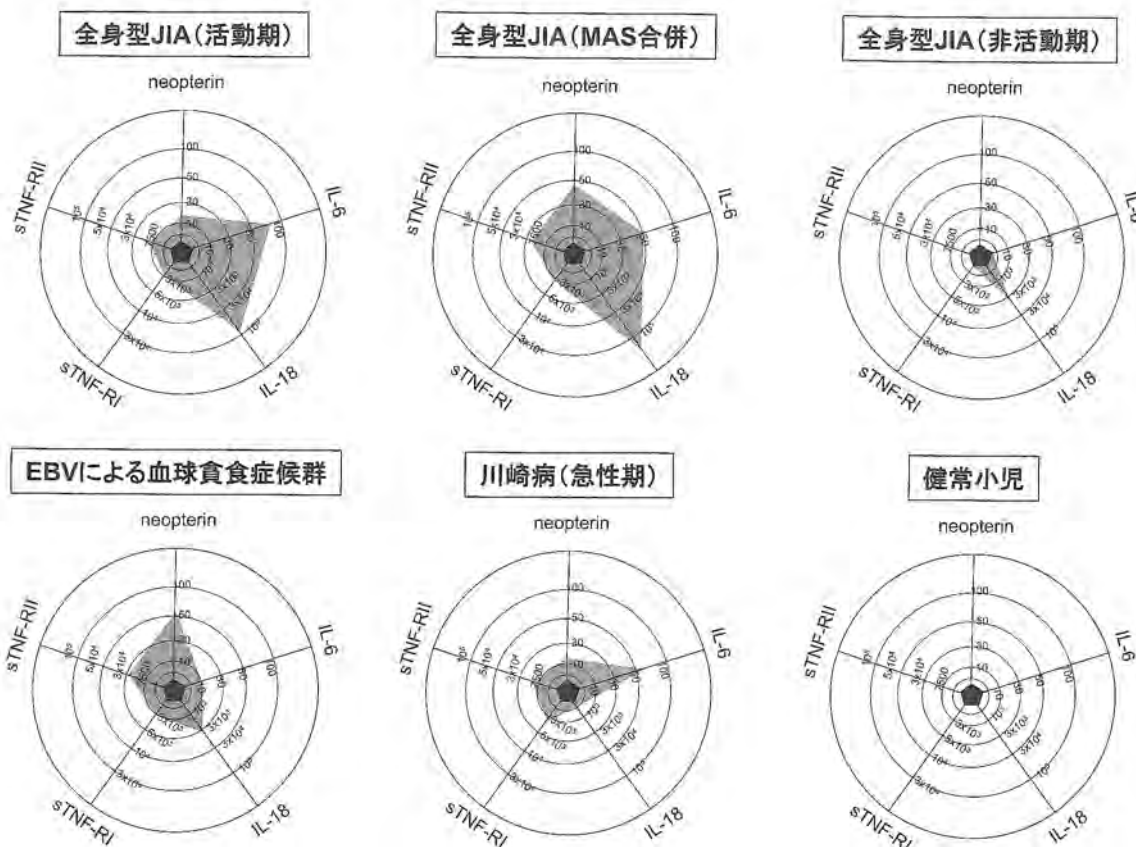


図9 全身型JIAのサイトカインプロファイル (金沢大学小児科 清水正樹先生よりご提供)

に注意が必要であり、特に血清中のフェリチンは早期発見のマーカーとして重要な項目である。

⑥ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen : HLA)

ILAR 分類の定義や除外項目として、病型分類に用いる。欧米では付着部炎関連関節炎において HLA-B27 が疾患関連抗原とされているが、本邦では人口中 HLA-B27 保有率が欧米に比べて低いため (0.3% vs. 7~14%)、臨床所見の重要性が高い。

⑦鑑別診断

鑑別診断のため、疾患特異的自己抗体、感染症の抗原や抗体、炎症性腸疾患スクリーニングとしての便中ヘモグロビン、関節穿刺液、骨髓検査など必要に応じて施行する。

4) 鑑別診断に迷う場合

上記を行っても診断に迷うような場合は、小児リウマチ性疾患の専門施設へコンサルトしていただく。

JIA の疫学

小児慢性特定疾患治療研究事業 (現：小児慢性特定疾病対策事業) を活用した調査では、本邦の JIA 有病

表7 JIA 病型別患児割合

	欧米	本邦(2008)
全身型	5~15	41.7
少関節炎	50~80	20.2
RF 陰性多関節炎	17	13.7
RF 陽性多関節炎	3	18.2
乾癬性関節炎	0~11	0
付着部炎関連関節炎	1~10	1.6
未分類関節炎	11~21	4.7

文献 17, 18 より (数字は%)

率は小児 10 万人あたり 11.3 人であった²²⁾。表 7 に欧米・本邦それぞれの病型別割合を示す¹⁷⁾¹⁸⁾。病型割合には民族差がある事が知られており、本邦では全身型、多関節炎が多い。年齢・性差に関しては表 6 に挙げた。

JIA の病態

多くのリウマチ性疾患同様、原因不明である。

全身型では炎症性サイトカイン、特に IL-1, IL-18, IL-6 が主体となって自然免疫系が活性化し、全身性炎症を引き起こす²²⁾。特に IL-18 は非活動状態でも高値を

示し、病因に大きく関与していると考え、一部の患者では家族性地中海熱などの責任遺伝子に変異を持ち、自己炎症性疾患の側面も持つ。

多関節炎では獲得免疫の異常が主体とされ²⁰⁾、特にRF・抗CCP抗体陽性は早期の関節破壊進行や治療抵抗性のリスクとされている。関節局所で主にTNF- α やIL-6など炎症性サイトカインの過剰産生による滑膜炎が生じ、炎症が慢性化すると軟骨・骨にも炎症が波及して関節破壊や変形を生じる。

小児で特徴的と考えられている少関節炎でも獲得免疫の異常が主体とされており²⁰⁾、ANAが約20%で陽性となる。ANA陽性はぶどう膜炎のリスクとされるがその発症機序を含め病態は不明な点が多い²⁵⁾。

多関節炎・少関節炎では遺伝的要因も報告されており、例えば一卵性双生児の発症率は25~40%と高く、JIA患児の同胞はJIA発症リスクが11.6倍と高い²⁶⁾、欧米ではRF陽性多関節炎とHLA-DRB1*04:01/04:04が²⁶⁾、本邦では多関節炎とHLA-DRB1*04:05、ぶどう膜炎とHLA-A*02:06の関連が報告されている²⁷⁾。

付着部炎関連関節炎や乾癬性関節炎では、環境要因として付着部への外的ストレスや腸管感染症が、遺伝的要因としてHLAの関連が知られている¹⁷⁾。付着部炎が遷延すると異常骨化による可動域制限を生じる場合があり、脊椎・仙腸関節の病変が進行すると強直性脊椎炎の病像をとる。サイトカインでは、付着部炎関連関節炎ではTNF- α 、IL-6、IL-8が、乾癬性関節炎ではTNF- α 、IL-12/23、IL-1、IL-6、IL-2、IL-8、IFN- γ の関与が示されている¹⁷⁾。近年乾癬の責任遺伝子としてCaspase recruitment domain-containing protein 14 (CARD14)が同定され、その異常によりNF- κ Bの活性化が起こる事が報告された²⁸⁾。炎症性サイトカイン高値となるCARD14異常症は自己炎症性疾患の範疇に入っており、程度は不明であるが、一部の患者では自然免疫が関与している可能性がある。

JIAの治療

2015年度改訂版手引きでは、治療を全身型と関節型(全身型以外)に分けた。これは全身性炎症と関節局所の炎症という、病態の違いで大きく治療を分けたことになる。2007年版手引きではさらに関節型の治療を関節数で分けていたが、関節数と治療反応性は必ずしも相関しない事、臨床所見だけでは罹患関節の正確な把握は困難である事などから、今回は関節破壊リスクの強度で分ける事とした。

1) 初期治療²⁾

初期治療はいずれも非ステロイド抗炎症薬(non-

steroidal anti-inflammatory drugs: NSAIDs)であり、小児適応のあるNSAIDsはイブプロフェン(30~40mg/kg, 最大2,400mg/日, 分3~4)とナプロキセン(10~20mg/kg, 最大1,000mg/日, 分2)のみである。副作用の消化管潰瘍に注意する。

全身型の治療は(図10)は全身GC投与が基本となり、メチルプレドニゾンパルス療法を施行する。2015年改訂版手引きでは後療法についても詳しく解説した。過凝固、消化管潰瘍、骨粗鬆症、白内障/緑内障などの副作用に注意する。GCで炎症が抑制できない場合や減量で再燃する場合、GCの副作用が大きく継続が難しい場合、MASに移行した場合、関節炎が改善しない場合は小児リウマチの専門施設にコンサルトしていただく。

関節型では関節破壊のリスク判定を行い、ハイリスク群では早期に葉酸代謝拮抗薬であるメトトレキサート(methotrexate: MTX)を用いる(図11)。代謝の活発な小児では、成人に比較して高用量が必要であり、薬物動態上空腹時1回投与が望ましい。嘔気や肝障害など消化器系の副作用が懸念される場合は、分割投与や食後投与、24~48時間後の葉酸(MTXの25~50%相当量)補充を検討する。MTXで関節炎がコントロールできない場合や、不耐例では小児リウマチの専門施設にコンサルトをしていただく。少量経口プレドニゾン療法(0.1~0.2mg/kg, 最大15mg/日)は、2015年改訂版ではオプションの扱いとした。炎症が著しく、QOLの低下した症例で、MTXの効果が現れる1~2か月ほどの短期間に限って、使用する事ができる。

2) 追加治療

初期治療で改善しない場合や、副作用が問題となり治療継続が困難な場合は生物学的製剤を考慮する。現在JIAに適応がある生物学的製剤はトシリズマブ、エタネルセプト、アダリムマブの3剤のみである。処方の際に、日本リウマチ学会認定のリウマチ専門医であるか、JIA研修会の受講者(薬剤ごと)である事が義務付けられており、十分リウマチ診療経験のある施設で行う事が望ましい。使用の実際については、すでに日本小児科学会雑誌に発表されているため^{29)~31)}参考にしていただきたい。

治療開始後は、定期的に画像検査にて関節破壊進行がない事を確認していく。

①全身型

初期のGC治療で寛解に至らない場合、GC減量で再燃する場合、看過できないGCの副作用があるにも関わらずGCを減量/中止できない場合は追加治療の適応である。本邦ではIL-6受容体抗体であるトシリズマブを用いる(2歳以上、標準量: 8mg/kgを2週に1回点滴投与)。急性期のトシリズマブ使用はMASの発

sJIA: systemic JIA, MAS: マクロファージ活性化症候群, NSAIDs: 非ステロイド抗炎症薬, mPSL: メチルプレドニゾン, PSL: プレドニゾン, GC: グルココルチコイド

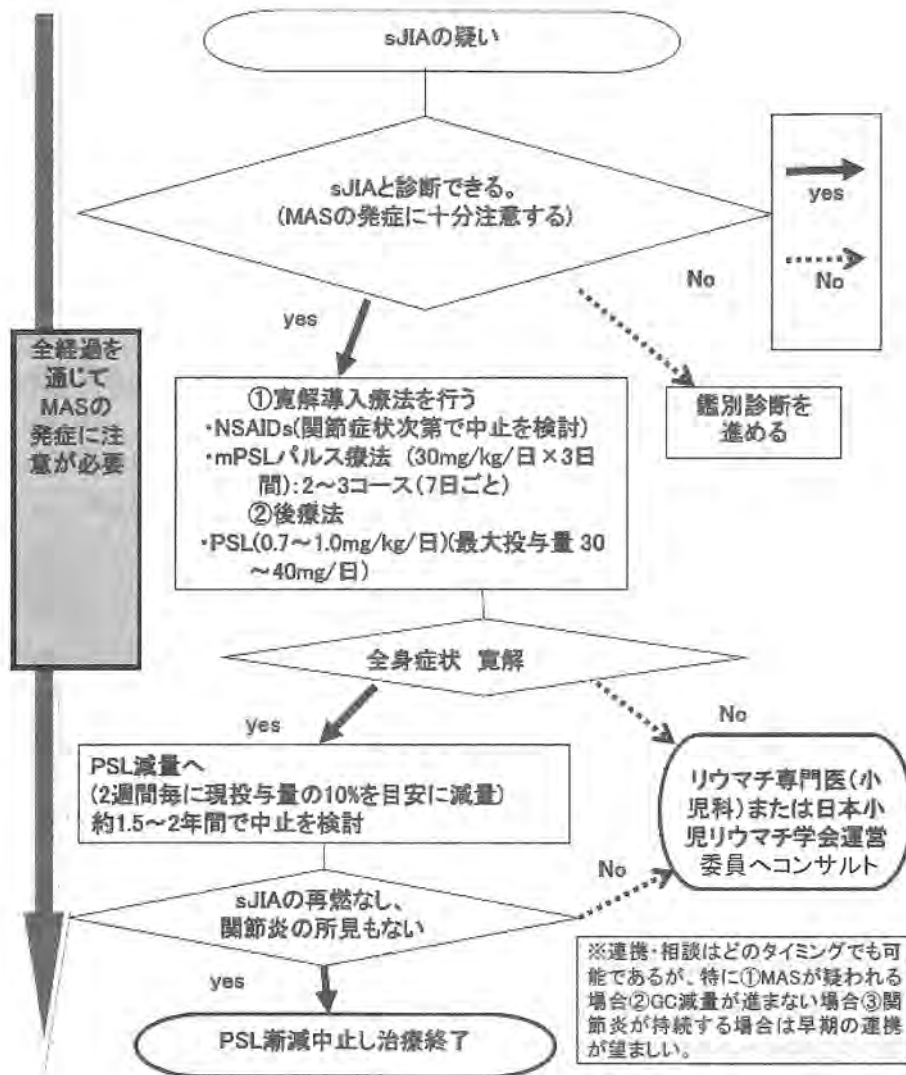


図10 全身型 JIA の治療アルゴリズム

症リスクを高めるため、導入時期には注意を要す。また、トシリズマブ使用中は基本的にCRPは検出感度以下となり、発熱や倦怠感など感染症にかかっても症状や検査所見が軽減化してしまうため、感染症状があるときや有熱時（微熱でも）は慎重な判断を要する。

②関節型、全身型発症関節炎

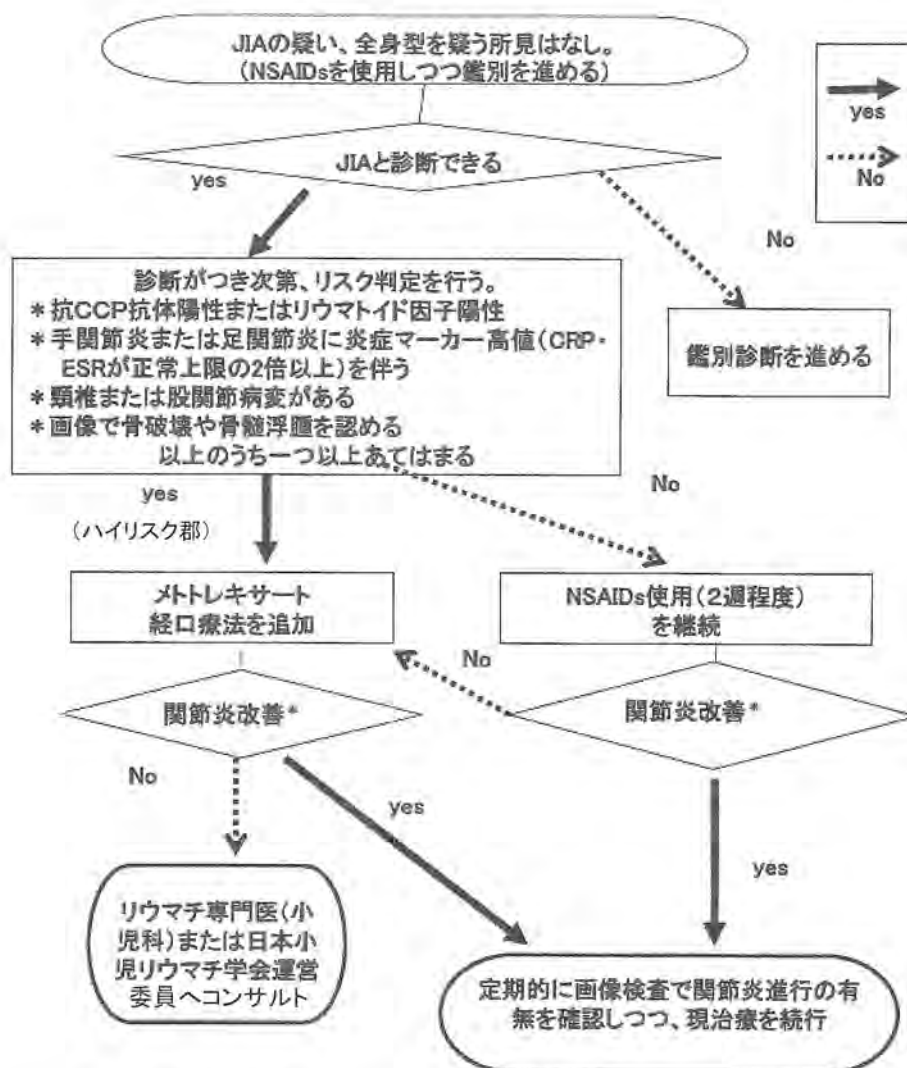
MTXに不応またはMTX不耐症患者の活動性関節炎、全身性炎症が落ち着いた後に遷延する活動性関節炎に対しては、TNFαの阻害薬であるエタネルセプト（5歳以上、標準量：0.2~0.4mg/kgを週に2回皮下注射）やアダリムマブ（5歳以上、標準量：体重15kg以上30kg未満は20mgを、30kg以上は40mgを2週に1回皮下注射）、IL-6受容体抗体であるトシリズマブ（2歳以上、標準量：8mg/kgを4週に1回点滴投

与）が適応となる。皮下注射製剤はいずれも外来での指導により自己注射への移行が可能である。

JIA の管理

免疫抑制剤使用時の結核およびB型肝炎のスクリーニングや定期的な確認は、添付文書で義務付けられている。

結核スクリーニングについては、画像検査（胸部レントゲン、胸部CT）の異常と結核特異的検査（ツベルクリン反応、結核特異的IFN-γ遊離試験）の異常を組み合わせるリスクを判定する。乳児では結核特異的IFN-γ遊離試験よりツベルクリン反応の方が感度に優れているという報告があり、可能な限り両者の施行が望ま



* 関節炎改善の目安: 腫脹・疼痛・可動域制限のある関節がない。
 画像検査で活動性のある関節炎や骨炎がない。
 MTX開始後については3か月(ハイリスク群では2か月)時に判定。

図 11 関節型 JIA の治療アルゴリズム

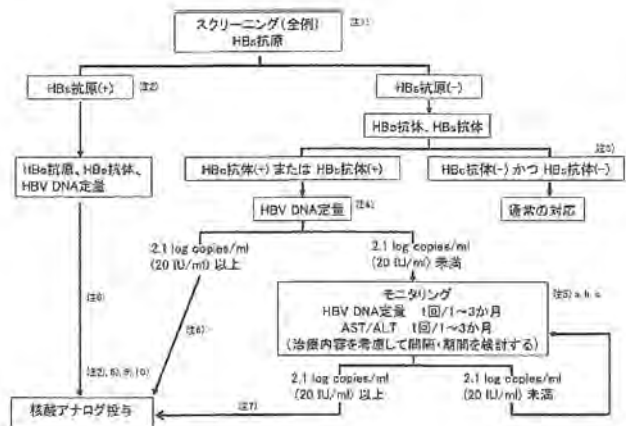
しい。活動性結核が疑われる場合は結核治療を優先する。潜在性結核が疑われる場合はisoniazidの予防内服を検討し、小児リウマチの専門施設にコンサルトする。

B型肝炎スクリーニングについては、日本肝臓学会から「免疫抑制・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドライン」(図12)が公表されている(http://www.jsh.or.jp/medical/guidelines/jsh_guidelines/hepatitis_b)。2016年10月から、2016年4月1日以降に出生したものを対象にB型肝炎ワクチンの定期接種が開始されるため、今後抗体価の判断には注意を要する。

GC、免疫抑制剤や生物学的製剤使用中の生ワクチンの接種は禁忌であるため、治療開始前にワクチン歴・罹患歴を確認しておく。不活化ワクチンに関しては疾

患活動性がない事を確認し、接種可能である。また、予防接種法の改訂により「長期にわたり療養を必要とする疾病にかかった者等の定期接種の機会の確保」が可能となった(<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000036493.html>)。当該特別の事情がなくなった日から起算して2年を経過する日までの間は医師の診断により定期接種を受ける機会が与えられる。年齢やワクチンの種別により対応が異なるため、詳細は市町村に確認して頂く。

上記のほか、2015年改訂版手引きでは、感染症管理や運動、日常管理についても詳細に記載した。ここではページ数の都合上割愛するが、JIA患児を診療されておられる諸氏はぜひ手引き本体を参照して頂けると幸いである。



種別・血液悪性疾患に対する強力な化学療法中あるいは終了後に、HBs 抗原陽性あるいはHBs 抗原陰性例の一部にHBV 再活性化によりB型肝炎が発症し、その中には劇症化する症例があり、注意が必要である。また、血液悪性疾患または固形癌に対する通常の化学療法およびリウマチ性疾患・膠原病などの自己免疫疾患に対する免疫抑制療法においてもHBV 再活性化のリスクを考慮して対応する必要がある。通常の化学療法および免疫抑制療法においては、HBV 再活性化、肝炎の発症、劇症化の頻度は明らかでなく、ガイドラインに関するエビデンスは十分ではない。また、核酸アナログ投与による劇症化予防効果を完全に保証するものではない。

注1) 免疫抑制・化学療法前に、HBV キャリアおよび既往感染者をスクリーニングする。まずHBs 抗原を測定して、HBV キャリアかどうかを確認する。HBs 抗原陽性の場合には、HBs 抗体およびHBs 抗体を測定して、既往感染者かどうかを確認する。HBs 抗原・HBs 抗体およびHBs 抗体の測定は、高感度の測定法を用いて検査することが望ましい。また、HBs 抗体単陽性(HBs 抗原陰性かつHBs 抗体陽性)例においても、HBV 再活性化は罹患されており、ワクチン接種歴が明らかである場合を除き、ガイドラインに従った対応が望ましい。

注2) HBs 抗原陽性例は肝臓専門医にコンサルトすること。全ての症例で核酸アナログ投与にあたっては肝臓専門医にコンサルトすることが望ましい。

注3) 初回化学療法開始時にHBs 抗体、HBs 抗体未測定の場合には免疫抑制療法が開始

されている例では、抗体価が低下している場合があり、HBV DNA 定量検査などによる精査が望ましい。

注4) 既往感染者の場合は、リアルタイムPCR法によりHBV DNAをスクリーニングする。

注5) a. リツキシマブ・ステロイド、フルダラビンを用いる化学療法および造血幹細胞移植例は、既往感染者からのHBV再活性化の高リスクであり、注意が必要である。治療中および治療終了後少なくとも12か月の間、HBV DNAを月1回モニタリングする。造血幹細胞移植例は、移植後長期間のモニタリングが必要である。

b. 通常の化学療法および免疫作用を有する分子標的薬を併用する場合においても頻度は少ないながら、HBV再活性化のリスクがある。HBV DNA量のモニタリングは1~3か月ごとを目安とし、治療内容を考慮して間隔および期間を検討する。血液悪性疾患においては慎重な対応が望ましい。

c. 副腎皮質ステロイド、免疫抑制薬、免疫抑制作用あるいは免疫修飾作用を有する分子標的治療薬による免疫抑制療法においても、HBV再活性化のリスクがある。免疫抑制療法では、治療開始後および治療内容の変更後少なくとも5か月間は、月1回のHBV DNA量のモニタリングが望ましい。6か月後以降は、治療内容を考慮して間隔および期間を検討する。

注6) 免疫抑制・化学療法を開始する前、できるだけ早期に投与を開始することが望ましい。ただし、ウイルス量が多いHBs 抗原陽性例においては、核酸アナログ投与中であっても劇症肝炎による死亡例が報告されており、免疫抑制・化学療法を開始する前にウイルス量を低下させておくことが望ましい。

注7) 免疫抑制・化学療法中あるいは治療終了後に、HBV-DNAが2.1 log copies/ml(20 IU/ml)以上になった時点で直ちに投与を開始する。免疫抑制・化学療法中の場合、免疫抑制薬や免疫抑制作用のある抗腫瘍薬は直ちに投与を中止せず、対応を肝臓専門医と相談することが望ましい。

注8) 核酸アナログはエンテカビルの使用を推奨する。

注9) 下記の条件を満たす場合には核酸アナログ投与の終了を検討して、スクリーニング時にHBs 抗原陽性例ではB型肝炎における核酸アナログ投与終了基準を満たす場合。スクリーニング時にHBs 抗体陽性またはHBs 抗体陰性例では、(1)免疫抑制・化学療法終了後、少なくとも12か月間は投与を継続すること。(2)この継続期間中にALT(GPT)が正常化していること。(但しHBV以外にALT異常の原因がある場合は除く)(3)この継続期間中にHBV DNAが持続陰性化していること。

注10) 核酸アナログ投与終了後少なくとも12か月間は、HBV DNAモニタリングを含めて頻りに経過観察する。経過観察方法は各核酸アナログの使用上の注意に基づき、経過観察中にHBV DNAが2.1 log copies/ml(20 IU/ml)以上になった時点で直ちに投与を再開する。

図12 免疫抑制剤・化学療法により発症するB型肝炎対策ガイドライン(日本肝臓学会, ver2.2)

難治性病態

1) MAS

全身型におけるMASは、小児リウマチ性疾患の死亡原因の一つとして上位にあがる病態で、短時間のうちに不可逆的な組織障害を来すため、治療開始後も注意が必要である³²⁾。MASの治療は経験のある医師が行う事を推奨するが、発症すれば2~3日が勝負となるため、現場の医師がMAS移行にいち早く気付いて初期対応がとれるよう、あえて2015年改訂版手引きに記載した。最近Ravelliらが早期発見のための新しい診断基準を発表したが³³⁾、特に血清フェリチンの著明高値はMAS移行に気づく端緒となる(表8)。早期発見・早期治療開始は予後を大きく改善するため、ワンポイントの数値だけでなく前値からの推移(量、方向、時間のベクトル)で判断する事が重要である。

治療は、GCの静脈投与・シクロスポリン持続注射・抗凝固療法などを基本治療とし、進行例では血漿交換を行う。GCはメチルプレドニゾロンパルス療法や、デキサメタゾンパルミチン酸エステル静脈投与(2.5mg~5.0mgを12時間ごと、乳児では半量)の有効性が報告されている。シクロスポリンは活性化T細胞

表8 全身型JIAに合併したMASの診断基準 (Ravelli A, 2016)

<p>全身型JIAと診断されている症例または疑われる発熱を呈する症例において、下記の基準を満たす場合</p> <p>1 血清フェリチン値上昇 (>684ng/ml)</p> <p>+</p> <p>2 下記のうち少なくとも2項目以上を満たした場合</p> <p>血小板減少 (≤18.1万/μl)</p> <p>AST上昇 (>48 IU/l)</p> <p>トリグリセライド上昇 (>156mg/dl)</p> <p>低フィブリノーゲン血症 (≤360mg/dl)</p>
--

の抑制効果や¹⁷⁾、マクロファージ/単球のサイトカイン産生抑制・遊走抑制効果などが報告されている³⁴⁾。高サイトカイン血症が制御できない場合は、過剰サイトカインの除去を目的に血漿交換を行う。ただしこれらはすべて保険適応外であり、有効性についても症例集積研究の報告のみである。

2) ぶどう膜炎

関節型における前部ぶどう膜炎(虹彩炎・網脈絡膜炎を含む)は、特に低年齢発症のANA陽性(160倍以上)患児で注意すべき合併症である。関節炎の活動性とは無関係に、遠隔期においても発生し、時に自覚症

表9 ふどう膜炎監視のための推奨眼科受診間隔

関節炎発症から<4年			
JIA 発症型病型	ANA	眼科受診間隔	
		発症年齢 ≤6歳	発症年齢 ≥7歳
少関節炎, RF (-) 多関節炎, 未分類関節炎	陽性	3か月毎	6か月毎
少関節炎, RF (-) 多関節炎, 未分類関節炎	—	6か月毎	6か月毎
4歳未満発症乾癬性関節炎	*	3か月毎	—
その他	*	12か月毎	12か月毎

4年 ≤ 関節炎発症から<7年

4年 ≤ 関節炎発症から<7年			
JIA 発症型病型	ANA	眼科受診間隔	
		発症年齢 ≤6歳	発症年齢 ≥7歳
少関節炎, RF (-) 多関節炎, 未分類関節炎	陽性	6か月毎	12か月毎
少関節炎, RF (-) 多関節炎, 未分類関節炎	—	12か月毎	12か月毎
4歳未満発症乾癬性関節炎	*	6か月毎	—
その他	*	12か月毎	12か月毎

*抗核抗体陽性の有無は問わない

状を欠く。放置すれば失明率も高くなるため、定期的な眼科受診による早期発見が重要である。2015年改訂版手引きでは、ガイドラインを参照に³⁶⁾、ふどう膜炎発症リスクに応じた眼科受診間隔を提案している（表9）。少関節炎・RF陰性多関節炎・未分類関節炎のANA陽性者、4歳未満発症の乾癬性関節炎はハイリスク群である。

治療は経験豊富な眼科医と連携をとりつつ行い、ステロイド点眼±MTX内服を基本とする。近年、海外では難治例におけるTNF α 阻害薬、アバタセプト、トシリズマブなど生物学的製剤の効果が報告されているが、本邦では適応外である。

医療制度

JIAは小児慢性特定疾病対策事業の対象疾病である。本邦における疫学研究や治療研究の礎となり、ひいては診療の枠を広げる機会にもつながる為、できるだけ本制度の利用をお願いしたい。2016年6月現在、20歳を超えたJIA患児については全身型のみ指定難病の対象疾病となっており、重症度基準を満たせば医療費助成の対象となる。20歳を超えた関節型JIA患児で医療費が高額となった場合は、高額療養費制度を利用できる。

予 後

免疫抑制剤や生物学的製剤の出現により、JIA患児の生命予後、関節機能予後は格段に改善した。海外では免疫抑制剤が使用される前と比べ、アミロイドー

スの合併減少により10年生存率が著明に改善したことや、手術（関節形成術、人工関節置換術）率が激減したとの報告がある³⁶⁾³⁷⁾。早期の生物学的製剤導入は関節破壊を来すことなく患児のQOLを保ち、全身型ではGC減量効果のため副作用軽減も図れる。治療にて非活動状態を達成した患児の中には、無治療寛解を達成する例も出現している。現在寛解率は病型によって異なるが、関節炎の遷延しない全身型や持続型少関節炎は比較的寛解率がよいとされる⁷⁾¹⁷⁾。しかしRF陽性多関節炎や全身型発症関節炎では発症10年後も80%程度が治療継続中であり、臨床的寛解（臨床所見に活動性がない）・構造的寛解（画像所見に活動性がない）を目標に引き続き管理を行う。

現代の治療によりJIA患児の予後が今後どう変化していくか、青年期に入った患児のトランジションをどう行うか、就職・出産など成人期の諸問題をどう解決するか、など「生物学的製剤時代」に入り、新たな局面を迎えている。

おわりに

2015年改訂版手引きに即して、JIAの診断と治療について概説した。JIAは稀な疾患と考えられているが、我々が行ったアンケート調査では、小児科学会認定専門施設の77%がJIA診療を経験していた⁸⁾。日本で標準化されたJIA診療をあまねく行うため、マニュアル的な初期診療の手引きの存在は重要であり、今後も時代の趨勢に合わせたup to dateが必要と考える。

日本小児科学会専門医かつ日本リウマチ学会専門医は2016年6月現在約65名とまだまだ数が少なく、地

域偏在も存在する。そのため日本小児リウマチ学会では、小児リウマチ診療のすそ野を広げる事を目的に、研修会等の教育活動も行っている。ご興味のある方は、詳細を学会ホームページ (<http://plaza.umin.ac.jp/praj/>) にてご参照されたい。

また、血清 IL-6, IL-18 など診療に有用な検査の保険収載や、各種薬剤の小児適応拡大、関節型 JIA における難病認定について、一刻も早い対応がなされる事を強く望む。

日本小児科学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

著者役割

「若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2015」は、日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会により編集され、日本小児リウマチ学会の承認を経て出版されました。岡本奈美はこの編集代表であり、日本小児リウマチ学会より依頼を受け、分科会総説を執筆いたしました。

文 献

- 1) Still GF. On a form of chronic joint disease in children. *Med Chir Trans* 1897 ; 50 : 47—60 [also reprinted in *Arch Dis Child*. 1941 ; 16 : 156—165].
- 2) Fink CW. Proposal for the development of classification criteria for the idiopathic arthritides of childhood. *J Rheumatol* 1995 ; 22 : 1566—1569.
- 3) Petty RE, Southwood TR, Baum J, et al. Revision of the proposed classification for juvenile idiopathic arthritis : Durban 1997. *J Rheumatol* 1998 ; 25 : 1991—1994.
- 4) Petty RE, Southwood TR, Manners P, et al. International League of Associations for Rheumatology Classification of Juvenile Idiopathic Arthritis : Second Revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004 ; 31 : 390—392.
- 5) University College London(UCL)ホームページより : <https://www.ucl.ac.uk/ich/support-services/library/library-historical-collection/publications/still>
- 6) 横田俊平, 森 雅亮, 今川智之, 他. 若年性特発性関節炎初期診療の手引き (2007年). *日児誌* 2007 ; 111 : 1103—1112.
- 7) 一般社団法人日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会編. 若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2015. メディカルレビュー社, 2015.
- 8) 岡本奈美, 岩田直美, 梅林宏明, 他. 「若年性特発性関節炎初期診療の手引き」改訂のためのアンケート調査結果の検討. *小児リウマチ* 2016 in Press.
- 9) Lundin B, Manco-Johnson ML, Ignas DM, et al. An MRI scale for assessment of haemophilic arthropathy from the International Prophylaxis Study Group. *Hemophilia* 2012 ; 18 : 962—970.
- 10) 星野裕信. 骨端症. *小児科診療* 2015 ; 78 : 453—457.
- 11) Breck LW. An atlas of the osteochondroses. Springfield, Illinois : Charles C Thomas, 1971.
- 12) 日本先天代謝異常学会編. 先天代謝異常症. 東京 : 診断と治療社, 2011.
- 13) Van Ackere T, Eykens A, Wouters C, et al. The phalangeal microgeodic syndrome in childhood : awareness leads to diagnosis. *Eur J Pediatr* 2013 ; 172 : 763—766.
- 14) Dallos T, Oppl B, Kovács L, et al. Pachydermodactyly : A review. *Curr Rheumatol Rep* 2014 ; 16 : 442.
- 15) Damasio MB, Malattia C, Martini A, et al. Synovial and inflammatory diseases in childhood : role of new imaging modalities in the assessment of patients with juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Radiol* 2010 ; 40 : 985—998.
- 16) Kanetaka T, Mori M, Nishimura K, et al. Characteristics of FDG-PET findings in the diagnosis of systemic juvenile idiopathic arthritis. *Mod Rheumatol* 2016 ; 26 : 362—367.
- 17) Petty RE, Laxer RM, Lindsley CB, et al. Textbook of pediatric rheumatology seventh edition. Philadelphia : Elsevier, 2015.
- 18) 武井修治. 小慢データを利用した若年性特発性関節炎 JIA の二次調査. 厚生労働科学研究費補助金 (子ども家庭総合研究事業) 分担研究報告書. 2008 : 102—113.
- 19) Gewitz MH, et al. Revision of the Jones criteria for the diagnosis of acute rheumatic fever in the era of doppler echocardiography. A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2015 ; 131 : 1806—1818.
- 20) Shimizu M, et al. Interleukin-18 for predicting the development of macrophage activation. *Clin Immunol* 2015 ; 160 : 277—281.
- 21) Shimizu M, Nakagishi Y, Yoshida A, et al. Serum interleukin 18 as a diagnostic remission criterion in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2014 ; 41 : 2328—2330.
- 22) 武井修治. 小児慢性特定疾患治療研究事業を利活用した小児慢性疾患に関するデータベース作成とそれ以外の登録システムの統合に関する研究. Capture-recapture 法による若年性関節リウマチ JRA の疾患頻度の推定. 厚生労働科学研究費補助金 (子ども家庭総合研究事業) 分担研究報告書. 2007 : 129—133.
- 23) Mellins ED, Macaubas C, Grom AA. Pathogenesis of systemic juvenile idiopathic arthritis : some answers, more questions. *Nat Rev Rheumatol* 2011 ; 7 : 416—426.
- 24) Lin YT, Wang CT, Gershwin ME, et al. The pathogenesis of oligoarticular/polyarticular vs systemic juvenile idiopathic arthritis. *Autoimmun Rev* 2011 ; 10 : 482—489.
- 25) Saurenmann RK, Levin AV, Feldman BM, et al. Prevalence, risk factors and outcome of uveitis in juvenile idiopathic arthritis : a long-term follow up study. *Arthritis Rheum* 2007 ; 56 : 647—657.
- 26) Hersh AO, Prahalad S. Immunogenetics of juvenile idiopathic arthritis : A comprehensive review. *J Autoimmun* 2015 ; 64 : 113—124.

- 27) Yanagimachi M, Miyamae T, Naruto T, et al. Association of HLA-A*02 : 06 and HLA-DRB1*04 : 05 with clinical subtypes juvenile idiopathic arthritis. *J Hum Genet* 2011 ; 56 : 196—199.
- 28) Jordan CT, Cao L, Roberson ED, et al. PSORS2 is due to mutations in CARD14. *Am J Hum Genet* 2012 ; 90 : 784—795.
- 29) 横田俊平, 今川智之, 武井修治, 他. 若年性特発性関節炎に対する生物学的製剤治療の手引き (2008). I. トシリズマブ. *日児誌* 2008 ; 112 : 911—923.
- 30) 横田俊平, 森 雅亮, 今川智之, 他. 若年性特発性関節炎に対する生物学的製剤治療の手引き (2009). II. エタネルセプト. *日児誌* 2009 ; 113 : 1344—1352.
- 31) 横田俊平, 今川智之, 村田卓士, 他. 若年性特発性関節炎に対する生物学的製剤治療の手引き (2011). III. アダリムマブ. *日児誌* 2011 ; 115 : 1836—1845.
- 32) 村田卓士, 三好麻里. 若年性特発性関節炎 (JIA) の難治性病態と治療に関する研究. 小児期のリウマチ・膠原病の難治性病態の診断と治療に関する研究. 平成 22 年度総括研究報告書. 2011 : 70—73.
- 33) Ravelli A, Minoia F, Davi S, et al. 2016 Classification criteria for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis : A European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2016 ; 75 : 481—489.
- 34) Setkowicz Z, Caryk M, Szafraniec M, et al. Tacrolimus (FK506) and cyclosporine A reduce macrophage recruitment to the rat brain injured at perinatal and early postnatal periods. *Neurol Res* 2009 ; 31 : 1060—1067.
- 35) Heiligenhaus A, Michels H, Schumacher C, et al. Evidence-based, interdisciplinary guidelines for anti-inflammatory treatment of uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int* 2012 ; 32 : 1121—1133.
- 36) Immonen K, Savolainen A, Kautiainen H, et al. Longterm outcome of amyloidosis associated with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2008 ; 35 : 907—912.
- 37) Malviya A, Jhonson-Lynn S, Avery P, et al. Juvenile idiopathic arthritis in adulthood and orthopaedic intervention. *Clin Rheumatol* 2009 ; 28 : 1411—1417.

改訂第2版

小児整形外科 テキスト

監修 日本小児整形外科学会

編集 日本小児整形外科学会 教育研修委員会



Textbook
of
Pediatric



小児整形外科の研修カリキュラムに準拠した

学会編のテキスト

待望の改訂版!

MEDICAL VIEW

若年性特発性関節炎



Key words

- 若年性特発性関節炎(juvenile idiopathic arthritis ; JIA)
- 国際リウマチ学会(International League of Associations for Rheumatology ; ILAR)
- 滑膜炎(synovitis) ●付着部炎(enthesis)
- メトトレキサート(methotrexate ; MTX) ●生物学的製剤(biologic DMARDs ; bDMARDs)

概念

いわゆる「こどものリウマチ」である。以前わが国では、アメリカ同様「若年性関節リウマチ(juvenile rheumatoid arthritis ; JRA)」の診断名が用いられていた。JRAは、①全身型、②少関節型、③多関節型の3病型からなる。しかし、国・地域により小児の慢性関節炎の病名や概念が違っており混乱がみられたため、現在は7病型からなる、より大きな疾患概念に統一された。

1995年に国際リウマチ学会(International League of Associations for Rheumatology ; ILAR)は、「16歳の誕生日以前に発症した、6週間以上持続する原因不明の慢性関節炎を若年性特発性関節炎(juvenile idiopathic arthritis ; JIA)とよぶ」と提唱した¹⁾。その後2度の改訂を経て、現在は2001年Edmonton版が最新である^{2, 3)}。JIAには特異的な症状や検査所見は存在せず、他の疾患を除外診断することが重要となる⁴⁾。



慢性関節炎を引き起こす疾患は多岐にわたる(例えばリウマチ性疾患のほとんどは関節炎を生じる)ため、鑑別診断が重要である。その他、①外傷、②感染症、③骨軟骨系統疾患、④悪性疾患、⑤血液疾患(特に白血病)、⑥代謝性疾患、⑦心因性を鑑別に挙げる。重要なことは、これらの疾患が関節痛の原因になりうることを知っておくことである。

分類

ILARのJIA分類を用いる(表1)⁵⁾。病型分類は発症から6か月目以降で確定する。また、初期には特徴的な症状(特に乾癬や付着部炎)が出ない症例もあるため、経過中の病型見直しは必要である。

全身型は、成人still病に近い疾患とされており、自然免疫の異常から引き起こされる高サイトカイン血症[特にinterleukin(IL)-1, IL-18, IL-6]が特徴である。

全身型以外の関節炎を主徴とする6病型を「関節型」とよぶ。少関節炎・多関節炎は獲得免疫の異常から、主に腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor ; TNF)- α やIL-6が過剰産生されて関節炎を生じる。付着部炎関連関節炎、乾癬性関節炎

(psoriatic arthritis; PsA)はヒト白血球抗原(human leukocyte antigen; HLA)の関与が知られており、関節局所で主にTNF- α が過剰産生されて関節炎を生じる。付着部炎関連関節炎は体軸関節の病変が悪化すると、強直性脊椎炎(ankylosing spondylitis; AS)の病型をとるため注意が必要である。

少関節炎の定義を満たすが、リウマトイド因子(rheumatoid factor; RF)が陽性の症例や、PsAの定義を満たすがHLA-B27陽性の症例は未分類関節炎に分類される。



表1 JIAのILAR分類

分類	定義	除外項目
全身型	1箇所以上の関節炎と2週間以上続く発熱(うち3日間は連続する)を伴い、以下の徴候を1つ以上伴う関節炎。 1) 暫時の紅斑, 2) 全身のリンパ節腫脹, 3) 肝腫大または脾腫大, 4) 漿膜炎	a, b, c, d
少関節炎	発症6か月以内の炎症関節が1~4箇所に限局する関節炎。以下の2つの型を区別する。 (a) 持続型: 全経過を通して4箇所以下の関節炎。 (b) 進展型: 発症6か月以降に5箇所以上に関節炎がみられる。	a, b, c, d, e
リウマトイド因子陰性多関節炎	発症6か月以内に5箇所以上に関節炎が及ぶ型で、リウマトイド因子が陰性。	a, b, c, d, e
リウマトイド因子陽性多関節炎	発症6か月以内に5箇所以上に関節炎が及ぶ型で、リウマトイド因子が3か月以上の間隔で測定して2回以上陽性。	a, b, c, e
乾癬性関節炎	以下のいずれか。 1) 乾癬を伴った関節炎 2) 少なくとも次の2項目以上を伴う例 (a) 指趾炎 (b) 爪の変形(点状凹窩, 爪甲剥離など) (c) 親や同胞に乾癬患者	b, c, d, e
付着部炎関連関節炎	以下のいずれか。 1) 関節炎と付着部炎 2) 関節炎あるいは付着部炎を認め、少なくとも以下の2項目以上を伴う例 (a) 現在または過去の仙腸関節の圧痛±炎症性の腰仙関節痛 (b) HLA-B27陽性 (c) 親や同胞に強直性脊椎炎, 付着部炎関連関節炎, 炎症性腸疾患に伴う仙腸関節炎, Reiter症候群または急性前部ぶどう膜炎のいずれかの罹患歴がある (d) しばしば眼痛, 発赤, 羞明を伴う前部ぶどう膜炎 (e) 6歳以上で関節炎を発症した男児	a, d, e
未分類関節炎	6週間以上持続する小児期の原因不明の関節炎で、上記の分類基準を満たさないか、または複数の基準に重複するもの。	

除外項目:

- a. 患児や親・同胞での乾癬罹患や乾癬既往歴
- b. 6歳以降に発症したHLA-B27陽性の関節炎男児
- c. 強直性脊椎炎, 付着部炎関連関節炎, 炎症性腸疾患に伴う仙腸関節, Reiter症候群
または急性前部ぶどう膜炎のいずれかに罹患しているか, 親・同胞に罹患歴がある
- d. 3か月以上の期間において少なくとも2回以上のIgM-RF陽性
- e. 全身型JIA

(文献3, 5より)

XII
炎症性疾患

疫学

過去の小児慢性特定疾患登録調査によると⁶⁾、有病率はわが国では小児人口10万人対10~15人であり、欧米とあまり差はない。小児リウマチ性疾患のなかでは最多頻度であるものの、関節リウマチ(rheumatoid arthritis; RA)の1/30~1/50程度とまれである。性差・好発年齢・主要症状は病型により異なる(表2)。発熱は全身型だけでなく、少関節炎・多関節炎でも20%程度にみられる。

診断

成人同様、問診・視診・触診にて関節を評価するが、自ら訴えができない乳幼児の診察には特に注意が必要である。「動きたがらず、すぐに休憩をとる」「手や足を持って動かすと機嫌が悪い」「歩き方が普段と違う」といった非特異的な症状で発症することがある。症状寡少な関節炎は見逃される可能性があり、すべての関節を触ることが基本で

ある。特に関節可動域は左右を比較することが重要である。

JIAを診断するためには、「慢性」の滑膜炎または付着部炎を確認する必要がある。急性の経過や1か月程度で自然軽快する場合は、感染症によるものや反応性関節炎を鑑別する。画像検査は関節炎や付着部炎の同定に、生体試料(血液・関節液など)を用いた検査は鑑別診断にそれぞれ有用である。

滑膜炎・付着部炎の診断にはMRIや関節超音波検査が有用である(図1a~c)。早期または微小な滑膜炎は単純MRIのみではとらえられないことがあるため、ガドリニウム造影を行う。関節超音波検査は非侵襲的で簡便なことから、近年小児に施行される頻度が増えてきた。しかし、術者の技術や機器の差異、成長による影響が大きいため評価には注意を要する。X線検査は早期診断に向かないが、関節破壊の進行度が確認できる(図1d)。また、代謝性疾患や栄養障害(くる病など)が鑑別診断されることがある。脊椎の骨病変はCT検査で評価しやすいが、被ばくが大きいため最小限に止

表2 わが国のJIA分類の特徴

	全身型	少関節炎	RF陰性多関節炎	RF陽性多関節炎
男:女	1:1.2	1:2.5	1:2.2	1:8.0
発症年齢 (中央値±SD)	5.8±3.8	5.5±4.2	7.0±4.2	9.9±3.5
発熱(%)	57.5	22.4	42.4	26.6
関節痛(%)	75.7	94.1	100	100
関節腫脹(%)	41.4	87.1	83.1	94.9
好発関節	大関節 (特に肩・股関節)	大関節(下肢)	大関節・小関節 (上・下肢ともに)	大関節・小関節 (上下肢ともに)
C反応性蛋白(CRP)/ 赤血球沈降速度(ESR)	著明高値	正常~軽度上昇	軽度~中等度上昇	軽度~中等度上昇
MMP-3	関節炎があれば 中等度上昇	正常~軽度上昇	軽度~中等度上昇	中等度~著明上昇
RF陽性(%)	7.5	0	0	100
ANA陽性(%)	3.2	27.3	21.6	38.5
抗CCP抗体陽性(%)	0	0	0	50.0

乾癬性関節炎, 付着部炎関連関節炎, 未分類関節炎に関してはわが国のデータなし。

(文献4, 6を基に著者作成)

める(図1e)。近年では脊椎病変のフォローにはMRIが推奨される。

他のリウマチ性疾患でも関節炎や付着部炎を生じうる[例:全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus; SLE), Sjögren症候群, 若年性皮

膚筋炎, 血管炎症候群, Behçet病など]が, 関節の画像だけでは区別は困難である。鑑別には, 関節炎以外の全身症状(①発熱, ②皮疹, ③口内炎, ④検尿所見, ⑤眼病変, ⑥唾液腺病変など)の有無, 特異的自己抗体や画像・病理所見(血管炎・筋炎所見

図1 画像検査

- a: 単純MRI T2強調像にて滑液貯留(矢印)と骨浮腫(矢頭)を認める。
- b: MRIガドリニウム造影像にて増強効果と滑膜肥厚を認める。
- c: 関節超音波検査(手関節尺骨頭長軸)にて滑膜肥厚(矢印), 液貯留(矢頭), 血流増加(パワー Doppler)を認める。
- d: 単純X線像にて関節裂隙の狭小化, 骨びらん, 脱臼・亜脱臼, 骨密度低下などがみられる。
- e: 仙腸関節のびらん CT検査でとらえられやすい(ただし被ばく量に注意)。



XII

炎症性疾患

など)の有無の確認が重要である。

関節液検査では非特異的な炎症所見に止まるため、化膿性関節炎や血友病、偽痛風など他の疾患を鑑別するのに有用である。

炎症反応やマトリックスメタロプロテイナーゼ-3(matrix metalloproteinase-3; MMP-3), は少関節炎では正常～軽度陽性にとどまることが多い(表2)。MMP-3は健常小児では<15ng/mLが多いとされている。RFはJIAの病型分類に、抗核抗体(anti nuclear antibody; ANA)はぶどう膜炎という眼の合併症リスク判定にそれぞれ用いる。ANAは小児では160倍以上を陽性とする。

関節炎発症初期は、単純X線検査にMRIや関節超音波検査を組み合わせで行う。鑑別のために関節外症状の有無を確認する。なお、炎症反応、MMP-3、RF、ANA陰性はJIAを否定するものではない。

治療

『若年性特発性関節炎初期診療の手引き2015』を基に概説する(図2, 3)。

初期治療はどちらも非ステロイド性抗炎症薬(nonsteroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs)を使用するが、現在小児適応があるのはイブプロフェン(30~40mg/kg, 最大2,400mg/日)とナプロキセン(10~20mg/kg, 最大1,000mg/日)のみである。

その後の治療は全身型と関節型で大きく異なる。全身型ではグルココルチコイドの全身投与が基礎治療となる。ステロイドパルス療法を行い、改善すれば内服に変更して徐々に減量する。

関節型においては関節破壊リスクの判定を行い、リスクが1つでも当てはまればメトトレキサート(methotrexate; MTX)をアンカードラッグとして用いる。低リスク群でも、NSAIDsのみで改善が乏しい場合はMTXを導入する。薬物代謝速度

の速い小児では成人より高用量のMTXが必要で、5~10mg/m²を週に1回空腹時に投与する。嘔気・肝障害など副作用がみられた場合は、MTXの20%程度の葉酸を24~48時間後に投与する。関節炎が改善しているかどうかは、臨床所見だけでなく定期的な画像検査にでも確認する(構造的寛解)。

上記にても改善しない場合、生物学的製剤が適応となり、前者ではIL-6受容体拮抗薬であるトシリズマブが、後者ではトシリズマブに加えてTNF- α 阻害薬であるエタネルセプトやアダリムマブが使用される[その他の生物学的製剤や古典的疾患修飾剤抗リウマチ薬(disease-modifying antirheumatic drugs; DMARDs)については、まだ小児適応がない]。なお、生物学的製剤の導入・管理時は、小児リウマチ診療経験豊富な医師と連携を取りつつ行うことが望ましい。

小児では治療薬の標準量・承認薬が成人と異なる。ステロイド、MTXや生物学的製剤使用前には、結核およびB型肝炎に対する感染症スクリーニングが義務付けられている。

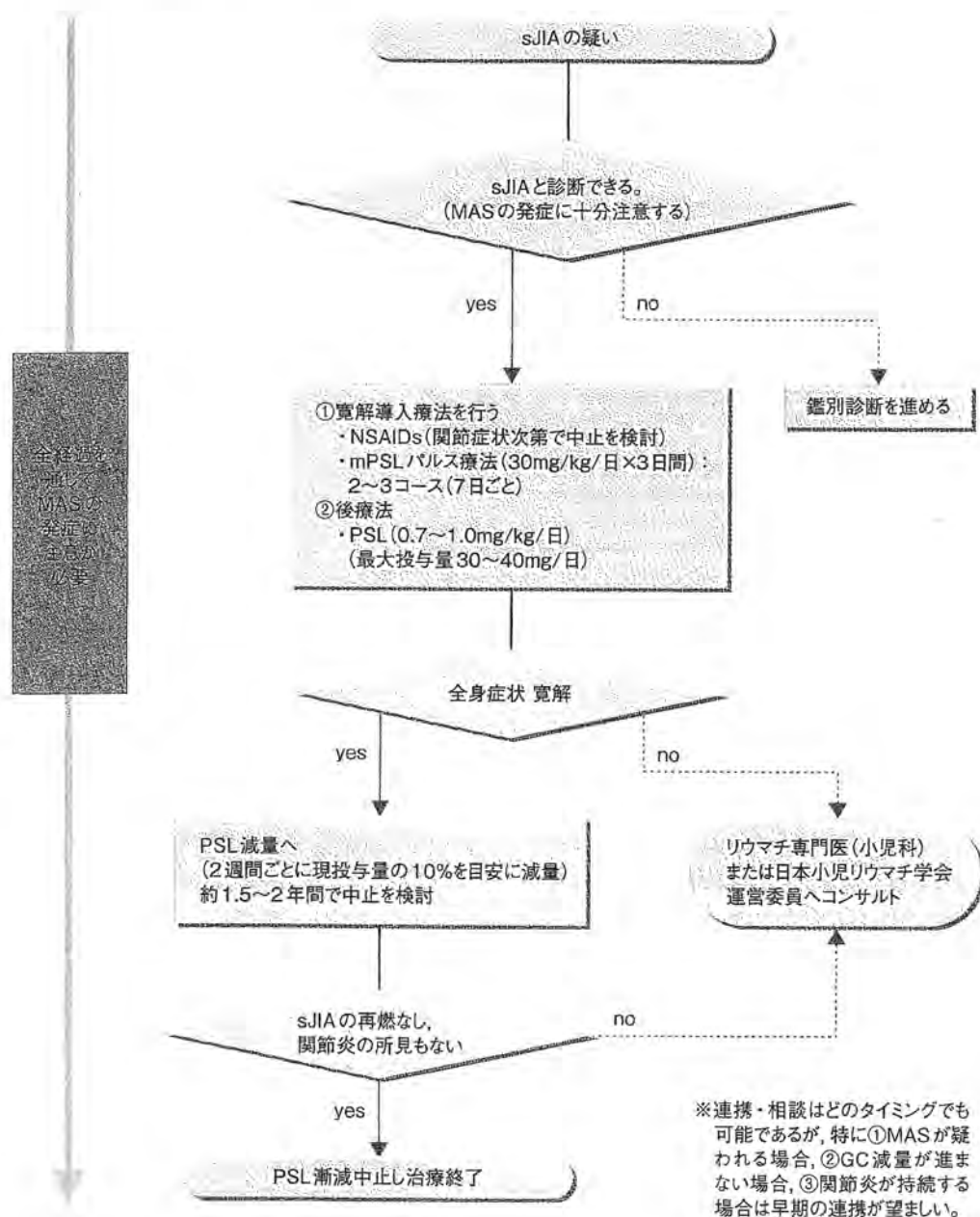
予後

病型により異なる。わが国の報告では⁵⁾、関節炎を伴わない全身型や少関節炎、RF陰性多関節炎は10年後の無治療寛解率が40~50%と高い。一方、関節炎が遷延する全身型やRF陽性多関節炎では80~90%が治療を要していた。

また、関節型JIAではぶどう膜炎の合併に注意が必要である。特に幼児期発症、ANA高値、PsAなどは高リスク因子である。関節炎が落ち着いているときや、発症から遠隔期に突然生じることもあり、少関節炎・多関節炎では無症状のため、定期的な眼科診察が重要である(表3)⁵⁾。

全身型で注意すべき合併症は、マクロファージ活性

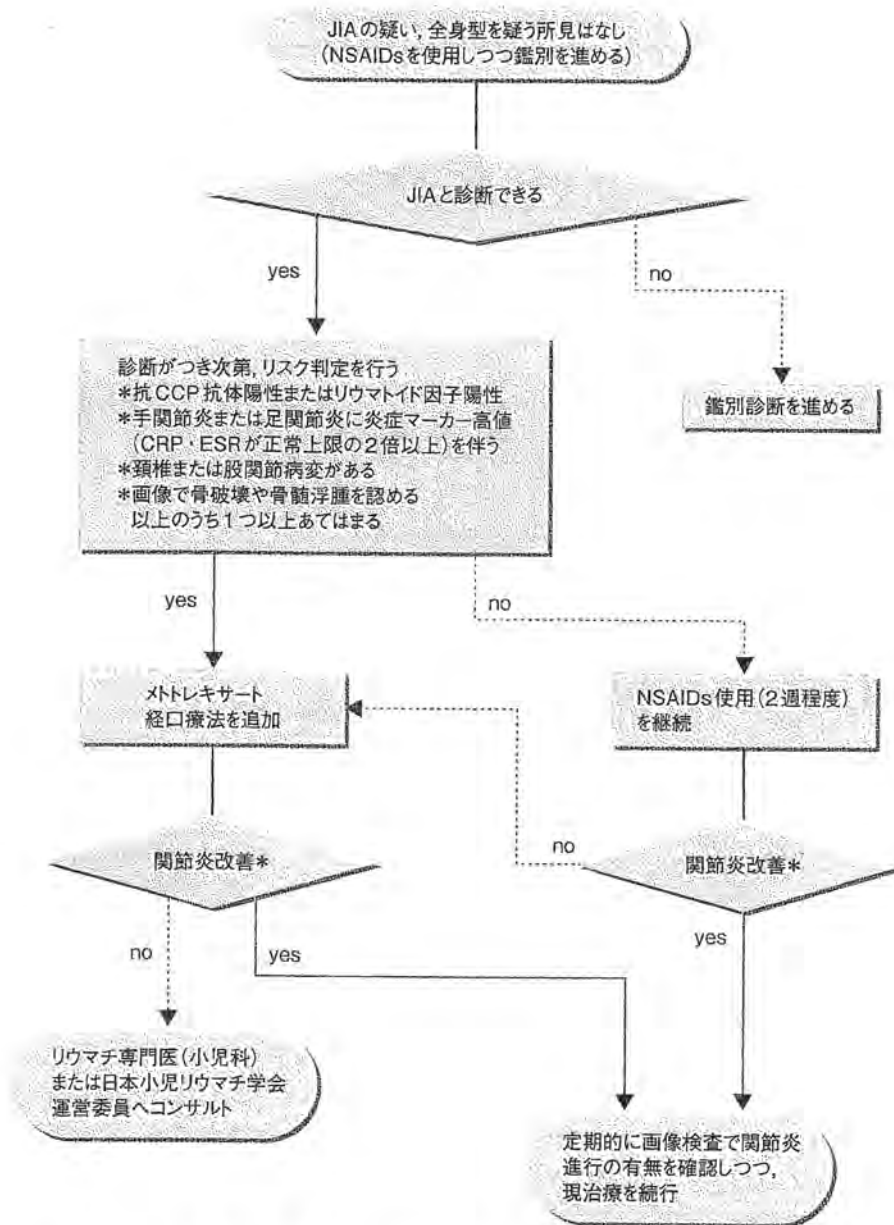
図2 全身型JIAの治療アルゴリズム



sJIA : systemic JIA (全身型 JIA), MAS : マクロファージ活性化症候群, NSAIDs : 非ステロイド抗炎症薬, mPSL : メチルプレドニゾン, PSL : プレドニゾン, GC : グルココルチコイド

(文献6より)

図3 関節型JIAの治療アルゴリズム



*関節炎改善の目安: 腫脹・疼痛・可動域制限のある関節がない。画像検査で活動性のある関節炎や骨炎がない。MTX開始後については3か月(ハイリスク群では2か月)時に判定。

(文献6より)

表3 推奨される眼科受診間隔

a: 関節炎発症から<4年

JIA発症型	ANA	眼科受診間隔	
		発症年齢≤6歳	発症年齢≥7歳
少関節炎, RF(-)多関節炎, 未分類関節炎	+	3か月ごと	6か月ごと
少関節炎, RF(-)多関節炎, 未分類関節炎	-	6か月ごと	6か月ごと
4歳未満発症PsA	*	3か月ごと	-
その他	*	12か月ごと	12か月ごと

b: 4年≤関節炎発症から<7年

JIA発症型	ANA	眼科受診間隔	
		発症年齢≤6歳	発症年齢≥7歳
少関節炎, RF(-)多関節炎, 未分類関節炎	+	6か月ごと	12か月ごと
少関節炎, RF(-)多関節炎, 未分類関節炎	-	12か月ごと	12か月ごと
4歳未満発症PsA	*	6か月ごと	-
その他	*	12か月ごと	12か月ごと

ANA: anti-nuclear antibody, PsA: psoriatic arthritis (乾癬性関節炎)

*抗核抗体陽性の有無は問わない。

(文献6より)

化症候群(macrophage activation syndrome; MAS)である。二次性の血球貪食症候群(hemophagocytic syndrome; HPS)と考えられているが、急速に高

サイトカイン血症から多臓器不全に至るため、無治療では致死率が高い。疑ったときは早めに診療経験豊富な医師に相談する必要がある。

(岡本奈美)

文献

- 1) Fink CW. Proposal for the development of classification criteria for idiopathic arthritides of childhood. J Rheumatol 1995; 22: 1566-9.
- 2) Petty RE, et al. Revision of the proposed classification for criteria juvenile idiopathic arthritis: Durban 1997. J Rheumatol 1998; 25: 1991-4.
- 3) Petty RE, et al. International league of associations for rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision. Edmonton, 2001. J Rheumatol 2004; 31: 390-2.
- 4) Petty RE, et al, authors. Textbook of Pediatric Rheumatology, 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2015.
- 5) 一般社団法人日本リウマチ学会小児リウマチ調査検討小委員会編. 若年性特発性関節炎初期診療の手引き2015. 大阪:メディカルレビュー社; 2015.
- 6) 武井修治, ほか. 小慢データを利用した若年性特発性関節炎JIAの二次調査. 平成19年度 総括・分担研究報告書 2008: 102-13.

小児の特性を考慮した 診断・分類基準はあるか？

富板美奈子

TOMITA Minako

千葉県こども病院アレルギー・膠原病科

Key Words ▶▶▶▶ ■診断の手引き ■ILARの分類基準 ■小児慢性特定疾病対策事業

成長過程にある小児は、免疫系も発達途中であり、成人とは異なるバランスで動いている。また、慢性疾患であるリウマチ性疾患は、病態完成までに長期間を要する場合もあり、小児は発症早期の病態として、病態の完成された成人の病像とは異なった表現型を呈することがある。これらのことから成人と同一の病名がつく疾患であっても、小児には小児の特性を考慮した診断・分類基準が必要である。若年性特発性関節炎や血管炎では国際的な分類基準があり、全身性エリテマトーデスはわが国で特有の診断の手引きが使われている。シェーグレン症候群に関しても2つの学会合同で診断の手引きが作成された。その他の小児リウマチ性疾患でも、2015年の小児慢性特定疾病対策事業の改訂に際して、新たな診断の手引きが作成された。

■はじめに

「小児の特性を考慮した診断・分類基準はあるか？」…答えはもちろん“Yes”である。では、なぜYesで、どのような基準があるのか。

本稿では、この問いに答えるべく、小児の診断・分類基準の必要性和、これまでに作成された小児に特化した基準について、また、2015年1月の小児慢性特定疾病対策事業改訂に合わせて作成された「診断の手引き」について、解説する。

■1. 小児に特化した分類・診断基準の必要性

成人にみられるリウマチ性疾患は、すべて小児においても患者が存在すると考えて良い。リウマチ性疾患は単一遺伝子疾患ではないため、診断・分類基準を用いて診

断され、症状や検査値、臨床経過は同じ病名がついても多彩である。成人でも同一疾患で若年者と高齢者では病態や経過に相違を認めることがあるが、さらに小児では以下の点が、成人とは異なっている。

- 1) 成長過程にある小児はほとんどすべての臓器が未熟なものから成熟したものへと変化している。ホルモン系や免疫系のバランスや活動性も、成人とは異なっており、年齢によっても違いがある。
- 2) 慢性疾患であるリウマチ性疾患は、疾患によっては病態が完成するまでに年余を要するものがある。小児期に病態が完成する疾患もあるが、小児期に発症して成人期に病態が完成する、すなわち小児期患者は発症早期の病態を呈して、成人とは表現型が異なってみえる疾患もある。

表① ILAR による JIA 分類

		除外項目
1	全身型 systemic arthritis	ABCD
2	少関節型 oligoarthritis	発症から6ヵ月間の罹患関節が4関節以下
	1. 持続型少関節型 (persistent oligoarthritis)	6ヵ月以後も罹患関節は4関節以下
	2. 進展型少関節型 (extended oligoarthritis)	6ヵ月以後, 罹患関節が5関節以上に増加
3	多関節型 (リウマトイド因子陰性) polyarthritis (rheumatoid factor negative)	発症から6ヵ月間の罹患関節が5関節以上
4	多関節型 (リウマトイド因子陽性) polyarthritis (rheumatoid factor positive)	発症から6ヵ月間の罹患関節が5関節以上
5	乾癬性関節炎 psoriatic arthritis	BCDE
6	付着部炎関連関節炎 enthesitis related arthritis	ADE
7	その他 (分類不能な関節炎) undifferentiated arthritis	

除外項目

- A: 乾癬あるいは乾癬の既往 (本人あるいは一親等の家族)
 B: HLA-B27 陽性の男児に6歳の誕生日以後に発症した関節炎
 C: 強直性脊椎炎, 付着部炎関連関節炎, 炎症性腸疾患に伴う仙腸関節炎, ライター症候群, 急性前部ぶどう膜炎がある, またはこれらの一親等の家族歴
 D: 3ヵ月間隔で測定したIgMリウマトイド因子陽性
 E: 全身型 JIA

(Petty RE *et al.*, 2001¹⁾より改変引用)

そこで, 成人と同じ診断・分類基準を用いているのは, 病名がつけられない症例がでてくる。的確な診断をするためには, 小児には特有の診断・分類基準が必要になる。小児の慢性関節炎は, International League of associations for Rheumatology (ILAR) により国際的な分類基準が作成されている¹⁾。小児の血管炎においても欧州リウマチ学会 European League against Rheumatism (EULAR) / Paediatric Rheumatology International Trials Organisation (PRINTO) / Paediatric Rheumatology European Society (PRES) の分類基準がある²⁾。小児の全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus: SLE) の診断には, わが国では1986年に厚生省研究班による「小児 SLE 診断の手引き」が作成されて使用されてきた³⁾。シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome: SS) でも小児患者と成人患者の相違点が明らかになるにつれ, 小児患者における診断基準の必要性が指摘され, 診断の手引きが作成された。

■ 2. 若年性特発性関節炎

若年性特発性関節炎 (juvenile idiopathic arthritis: JIA) は, 小児科領域のリウマチ性疾患では患者数が最も多い疾患である。1990年代まではわが国では米国リウマチ学会 (American College of Rheumatology: ACR) の分類に則り, 若年性関節リウマチ (juvenile rheumatoid arthritis: JRA) とよび, 全身型, 少関節型, 多関節型の3つに分類していた。一方, 欧州では若年性慢性関節炎 (juvenile chronic arthritis: JCA) とよび, 含まれる疾患も JRA とは多少異なっていた。1994年のILARでこれらを統一して JIA としての分類基準が発表された。2回の改定を経て, 2001年のEdmonton改訂版¹⁾が世界で広く使用されるようになったため, 現在はわが国でもこのILARの分類を使用することが多い (表①)。

ILARの分類基準では, 「16歳未満で発症した, 6週間以上持続する原因不明の関節炎」を JIA と定義する。あくまでも, 他の疾患を除外したうえで, 「原因不明」の「慢性関節炎」と診断された症例を, 病態や予後の違いか

ら、表①のように7つの疾患群に分類する基準であって、それぞれの病型の「診断基準」ではない。基本が除外診断であることから、JIAには誤診例が多くなりやすい。一方で過小診断などによる不適切な治療が、関節の機能障害や薬剤の副作用を大きくしてきたことから、日本リウマチ学会 (Japanese College of Rheumatology: JCR)・日本小児リウマチ学会共同で、小児リウマチ性疾患の専門でない医師がJIA患者を診療するときの参考となることを目的として『若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2007』¹⁾を作成した。その後も改訂作業を進め、2015年10月に『若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2015』³⁾が発刊された。

■ 3. 小児期のSLE

小児のSLEは一般に成人患者にくらべ活動性が高い。数年前までは教科書的には、「20歳未満での発症」は予後不良因子とされていた。SLEの診断には、永らくACRの基準が用いられてきたが、わが国で1985年に作成された厚生省研究班の「小児SLE診断の手引き」では、ACRの診断基準に低補体血症を加えた12項目のうちのいずれか4項目以上を満たせば「小児SLEである可能性が高い」と判断する。とくに低補体血症は小児SLEの経過中81~87%に出現する所見である。この項目を加えたことにより、小児のSLEの診断の感度が上昇し、早期診断・早期治療に結びついてきた。昨年の小児慢性特定疾病対策事業 (以下、小慢) 改訂に伴って公表した『小児期SLE診断の手引き』においても、低補体を診断に必要な項目として採用している。

■ 4. 小児期のシェーグレン症候群 (SS)

SSは、従来は小児では稀といわれてきた。これは、SSで特徴的とされる「眼が乾く」「口が渇く」という症状を訴える小児がほとんどいないためである。しかし、眼や口の乾燥は、涙腺・唾液腺が自己免疫性炎症によって傷害され、機能が低下して起こってくるものであり、自己免疫異常、外分泌腺の炎症という視点からSSを考えると、実は小児でも患者数は少なくない。

表② 小児慢性特定疾病治療研究事業対象疾患

1. JIA
2. SLE
3. 若年性皮膚筋炎・多発筋炎
4. SS
5. 抗リン脂質抗体症候群
6. ベーチェット病
7. 高安動脈炎 (大動脈炎症候群)
8. 多発血管炎性肉芽腫症
9. 結節性多発血管炎 (結節性多発動脈炎)
10. 顕微鏡的多発血管炎
11. 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症
12. 再発性多発軟骨炎
13. 強皮症
14. 混合性結合組織病
15. 家族性地中海熱
16. クリオピリン関連周期熱症候群
17. TNF受容体関連周期性症候群
18. ブラウ (Blau) 症候群/若年性サルコイドーシス
19. 中條西村症候群
20. 高IgD症候群 (メバロン酸キナーゼ欠損症)
21. 化膿性無菌性関節炎・壊疽性膿皮症・アクネ症候群
22. 慢性再発性多発性骨髄炎
23. インターロイキン1受容体拮抗分子欠損症
24. 15~23までに掲げるもののほか、自己炎症性疾患
25. Stevens-Johnson 症候群

(小児慢性特定疾病対策事業 (<http://www.shouman.jp>) より引用)

現在、SSの診断基準・分類基準は厚生省の改訂診断基準 (1999)、ヨーロッパ・米国改訂分類基準 (2003)、ACR分類基準 (2013) の3つが利用されているが、いずれも成人のデータを基に作成された基準である。これを主治医診断による小児のSS患者に当てはめると診断率は35%~82%となる。この診断率の低さから、患者を前にしたときに、そもそもSSが鑑別疾患として思い浮かばないことになり、診断を遅らせる原因となっていた。このため、小児に特化した診断基準の必要性が以前からいわれていた。日本シェーグレン症候群学会と日本小児リウマチ学会では小児SS診断基準策定のための合同ワーキンググループを立ち上げ、診断基準作成を進めてきた。両学会の理事会・運営委員会の合意を得て、2015年に発表した。内容は下記に引用した小慢情報センターのホームページで閲覧可能である。

5. 小児慢性特定疾病対策事業と小児リウマチ性疾患診断の手引き

平成27年1月に指定難病および小慢に関する法律が改

正された。小児慢性特定疾病対策事業とは、

「小児慢性疾患のうち、小児がんなど特定の疾患については、その治療が長期間にわたり、医療費の負担も高額となる。

このため、児童の健全育成を目的として、その治療の確立と普及を図り、あわせて患者家庭の医療費の負担軽減にも資するため、医療費の自己負担分を補助する制度」と位置づけられている。今回の改定により、対象となる疾患が、これまでの11疾患群514疾患から14疾患群760疾患に増加した。リウマチ性疾患は膠原病の大分類に含まれ、25の独立した疾患と、疾患名は記載されないが、診断基準をみたした自己炎症疾患が含まれる(表②)。この改訂にあたって、対象疾患について「診断の手引き」の作成・公開が求められた。日本小児リウマチ学会では、25疾患+1疾患群すべてについて、「小児期の」患者の「診断の手引き」を作成した。これらの診断の手引きは、小児慢性特定疾病情報センターのホームページ (<http://www.shouman.jp>) に掲載されている。

今回の手引き作成の目的は、各疾患の専門医でない主治医が、目の前にいる患者をこの疾患であるとして診断できるように導くことであった。そこで、診断基準項目のほかに、疾患を疑わせる症状や、特異的ではないが特徴的な検査所見などを記述した。

今後、見直し、改訂を重ねて、より良い基準・手引きを作成していく予定である

■ おわりに

小児期のリウマチ性疾患の診断について述べたが、小児ではたとえばメトトレキサートの代謝が成人より速いことから多くの量を必要としたり、SLEでは腎炎が必発で、強力な初期治療を必要とするなど、治療も成人とは異なっている。小児患者は小児の診断・分類基準で適切に診断をおこない、適切な治療をおこなうことが予後の改善につながる。リウマチ性疾患を疑う小児患者に遭遇した場合には、上記の診断の手引きを是非参考にさせていただきたい。

■ 文 献

- 1) Petty RE *et al*: International League of Associations for Rheumatology Classification of Juvenile Idiopathic Arthritis: Second Revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 31: 390-392, 2004
- 2) Ozen S *et al*: EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: Final classification criteria. *Ann Rheum Dis* 69: 798-806, 2010
- 3) 渡邊言夫: 厚生省心身障害研究報告書, 昭和60年度研究業績集, 厚生省, p31, 1986
- 4) 横田俊平ほか: 若年性特発性関節炎初期診療の手引き(2007年) 日本小児科学会雑誌 111: 1103-1112, 2007
- 5) 日本リウマチ学会 小児リウマチ調査検討小委員会編: 若年性特発性関節炎初期診療の手引き 2015. メディカルレビュー社, 東京, 2015



Key words
乾燥症状
自己免疫
外分泌腺

小児シェーグレン症候群を疑ったときの診断の進め方

とみた みなこ
富板 美奈子*

要旨 小児のシェーグレン症候群 (SS) 患者は、乾燥自覚症状を訴えないため見逃されている例が多い。そこで、乾燥症状にこだわらず、膠原病を疑わせるような非特異的な全身症状、臓器障害、反復性耳下腺腫脹などを認めた場合、SS を疑って検索を進める。日本シェーグレン症候群学会・日本小児リウマチ学会合同で作成した「小児期シェーグレン症候群診断の手引き」に沿って自己免疫異常、涙腺・唾液腺の異常について精査を進め、鑑別診断を行い総合的に診断する。小児期患者は発症早期のため基準を満たさない例もあるが、年余の経過で病態が完成するため、疑い例も慎重に経過をみる必要がある。

はじめに

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome : SS) は、一般には中年女性に好発する眼や口腔の乾燥症状を訴える疾患として捉えられている。小児では、乾燥症状を訴える患者はほとんどいないことから¹⁾、小児ではまれな疾患と思われてきた。しかし、実は SS は小児リウマチ性疾患の中では3~4 番目に症例数の多い疾患である²⁾³⁾。特徴的といわれる乾燥症状のない小児 SS 患者をどのように診断するか、本稿では、この点について、昨年公表した「小児期シェーグレン症候群診断の手引き」をもとに解説する。

I シェーグレン症候群とは

SS は涙腺・唾液腺を主とした全身の外分泌腺の系統的な障害を特徴とする、全身性の炎症性疾患である。患者の多くは自己抗体を有し、

また、さまざまな自己免疫疾患と合併することから、SS も自己免疫であると考えられている。

発症機序は明らかでない点が多いが、何らかの遺伝的素因をもつ患者に感染などの環境因子が作用することによって考えられる。遺伝的素因としては、いくつかの HLA やサイトカインの遺伝子が候補となっているが、人種を超えて共通するものは認められていない。環境因子としては、EB ウイルス、HTLV-1、コクサッキーウイルスが SS 発症と関連するといわれている。一方、HCV、HIV 感染者にみられる SS 様の腺障害は一次性 SS とは区別される。ウイルスなどの外的因子によって外分泌腺が傷害されると、局所で自己免疫応答が惹起される。腺障害の機序は主に腺細胞・導管上皮細胞のアポトーシスであるが、ムスカリン作動性アセチルコリン受容体に対する抗体や、水チャネル分子の細胞内での分布異常も報告されている。また、SS 患者の唾液腺では、組織再生に関与する分子に対する自己抗体も報告されており、再生の障害が慢性化に関与することが示唆されている。

* 千葉県こども病院アレルギー・膠原病科
〒266-0007 千葉県千葉市緑区辺田町 579-1

表1 シェーグレン症候群で報告されている腺外臓器障害

無菌性髄膜炎, その他の中枢神経障害
末梢神経障害
甲状腺炎
間質性肺炎
心膜炎
肝機能障害 (原発性胆汁性肝硬変)
間質性腎炎
多発性筋障害
高 γ グロブリン血症性紫斑
多発関節炎
環状紅斑, その他の皮膚症状

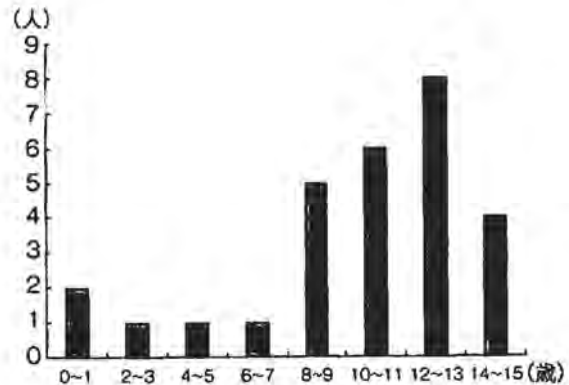


図1 推定発症年齢の分布

このようにSSでは、複合的要因で外分泌腺が傷害され、さらに自己免疫性炎症が慢性化することで外分泌腺の機能障害が起こると考えられる。すなわち、SSの乾燥症状は外分泌腺の機能障害の進行した結果であり、発症初期は機能障害が軽度で、自覚症状は認めなくとも不思議ではない。また、自覚症状にはかなり個人差があり、緩徐に進行する場合には本人は気づかずに水分摂取などで自然に対処している場合も少なくない。後述するが小児SS患者の多くは外分泌腺の機能障害が軽度であり、乾燥「自覚」症状は認めないのである。つまり、乾燥「自覚」症状にこだわると、小児SSは診断に至らないことになる。

一方、SSはさまざまな腺外臓器障害、腺外症状を認めることで知られている(表1)。重要臓器の障害によって発見される症例も報告されており、これらの疾患の原因としてSSを考慮する必要がある。また、10年以上経過を観察した13例では、7例が経過中に何らかの全身症状や腺外臓器障害を呈してきた。その時期や程度はさまざまで、免疫抑制療法を要した例もあった。そこで、SSは診断時腺症状が軽度で腺外臓器障害が認められない例であっても、慎重な経過観察が必要である。

Ⅱ 小児期シェーグレン症候群の特徴

乾燥自覚症状にこだわらずに、自己免疫、外分泌腺の障害という観点からSSを捉えたと、膠原病を疑われるものの診断のつかなかった症例や反復性耳下腺腫脹の中にSSが少なからず存在しているのがわかってくる。

筆者が千葉大学医学部附属病院で1989～2010年までに診療した患者の中で、厚生省シェーグレン症候群改定診断基準を満たしたSS患者は46例であった¹⁾。このうち、他の膠原病の合併のない一次性SSは28例で、男女比は1:8であった。

発症年齢は乳児期から思春期まで、小児期ほぼ全体にわたっている(図1)。初診時までに見られた症状としては、耳下腺腫脹、発熱、皮膚症状が多く、自覚症状としての眼乾燥、口腔乾燥を認めた例はこれらの中にはいなかった。初診時までには腺症状を認めた例は耳下腺腫脹11例とラヌラ(がま腫)1例の計12例(42.9%)であり、その他の症例は発熱、皮膚症状、関節痛など非特異的な腺外症状で発症している。免疫学的異常として、IgG高値、抗核抗体陽性、リウマトイド因子陽性、抗SS-A/Ro抗体、抗SS-B/La抗体は、成人とほぼ同様の頻度で認められる(図2)。

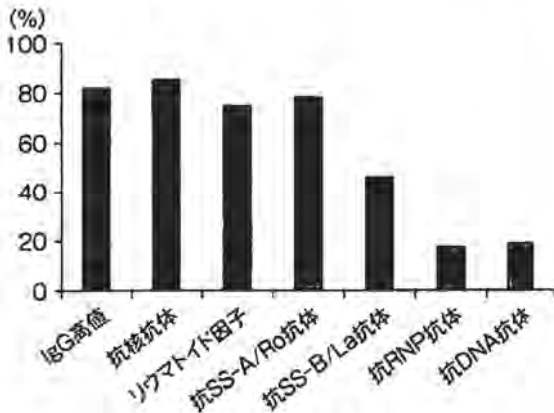


図2 免疫学的異常

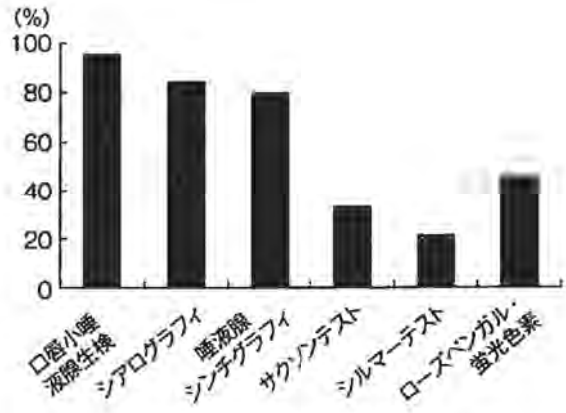


図3 外分泌腺の異常

外分泌腺の異常については、唾液腺、涙腺のそれぞれを評価したが(図3)、口腔小唾液腺生検は陽性率が高い。シアログラフィ、唾液腺シンチグラフィも約80%で陽性所見を認めている。一方、唾液分泌量を測定するサクソテストの陽性率は低い。また、眼科検査では涙液分泌量を図るシルマーテスト、角結膜表面の傷の程度を評価するローズベンガルテスト、蛍光色素試験の陽性率も低値である。すなわち小児では、唾液腺の異常は認めるものの、唾液の分泌量、涙液分泌量という機能の低下までは陥っていない例が多いことがわかる。

SSのような慢性疾患の発症時期を推定するのは難しいが、これらのことからSSは小児期に発症して、緩徐に経過し、好発年齢といわれる中年になった頃に病状が完成するのではないかと推測される。

Ⅲ 診断基準

現時点で主に使われているSSの診断基準・分類基準は、以下の3つである。

- ① 厚生省シェーグレン症候群改訂診断基準⁵⁾
- ② ヨーロッパ・アメリカ改訂分類基準⁶⁾
- ③ アメリカリウマチ学会分類基準 [Sjögren's International Clinical Collaborative Alliance

(SICCA) コホートによる]⁷⁾

これらはいずれも成人のSS患者のデータを基に作成されたものであり、とくに分類基準は国際共同研究や治験の基準として用いることを意識しているため、基準が厳しく設定されていたり、世界中どの地域でも施行可能な検査のみを採用するなどの制限がある。このため、小児のSS患者はこれらの基準に当てはまらない例が多いことが問題となっていた。

そこで、日本シェーグレン症候群学会と日本小児リウマチ学会では、合同でワーキンググループ(WG)を立ち上げ、小児のシェーグレン症候群患者の診断基準を策定するための検討を行ってきた。日本小児リウマチ学会からは北海道から九州までの9つの小児リウマチ専門施設からメンバーを選出し、また日本シェーグレン症候群学会からは内科、眼科、歯科口腔外科、耳鼻咽喉科からそれぞれ一人ずつ委員に加わっていただき、成人のSSとの齟齬がないように検討をした。両学会の理事会、運営委員会の承認のもと、2016年1月に小児慢性特定疾病対策事業の改訂に合わせて「小児期シェーグレン症候群診断の手引き」を公表した。

以下、この手引きの内容をもとに、小児期SSの診断手順を解説する。

IV どのようなときにシェーグレン症候群を疑うか

1. 臨床症状・臓器障害

前述のように、乾燥症状を訴える小児はほとんどおらず、これまで診断されている症例も腺外症状などが多い。WGでは、小児リウマチ専門医の所属する施設から症例を集め、それらの症例の初診時までの症状をまとめ、SSを疑う症状とした。

- ① 全身症状：発熱，倦怠感，リンパ節腫脹，朝のこわばり，原因不明の全身の疼痛
- ② 腺外臓器症状：関節痛・関節炎，環状紅斑など皮疹，紫斑，甲状腺腫，レイノー症状
- ③ 腺症状：反復性耳下腺腫脹，う歯の増加，口腔の痛み，口内炎の反復，ラヌラ，繰り返す眼の発赤，眼の異物感・かゆみ
- ④ 摂食時よく水を飲む，口臭，涙が出ない

などである。④に挙げた項目は、注意して問診しないとわからない。

2. 検査所見の異常

不明熱などで血液検査を行った場合に、注意すべき所見として、以下を挙げた。

- ① 唾液腺腫脹のはっきりしない時期の唾液腺型アミラーゼ高値
- ② 年齢における97.5パーセントイル以上のIgG高値，あるいは高 γ グロブリン血症
- ③ 白血球減少，あるいはリンパ球減少
- ④ 赤血球沈降速度の亢進

などである。しかし、これらの所見は非特異的なものである。3カ月以上間隔をあけて再検し、同様の所見が認められた場合は、SSを疑う要素の一つと考えられる。

3. 合併しやすい疾患

SSはさまざまな自己免疫疾患や腺外臓器障害を呈する。そこで、以下のような疾患を診た場合には、基礎疾患あるいは合併症としてSSを考える。

- ① 橋本病，無菌性髄膜炎，間質性腎炎，血小

板減少性紫斑病，ぶどう膜炎

- ② 他の膠原病，とくに全身性エリテマトーデス，混合性結合組織病，多関節型若年性特発性関節炎など

- ③ 線維筋痛症，慢性疲労症候群

などである。

4. 除外診断・鑑別診断

以下に挙げるものは、除外する。

- ① ウイルス性疾患（流行性耳下腺炎，HCV，HIV，EBウイルス感染症など）
- ② 悪性腫瘍
- ③ サルコイドーシス
- ④ 移植片対宿主病（graft versus host disease：GVHD）
- ⑤ 頭頸部への放射線照射の既往
- ⑥ Stevens-Johnson症候群による後遺症としての唾液腺・涙腺障害

一方、以下の疾患は鑑別を要するものであるが、一部は合併症となり得るので、すぐにSSを除外せずに精査を進める。

- ① 他の膠原病
- ② 自己炎症性疾患
- ③ IgG4関連疾患
- ④ HTLV-1感染症
- ⑤ 反復性耳下腺炎
- ⑥ 線維筋痛症
- ⑦ 慢性疲労症候群

V 検査の進め方

前述のような症状，検査値の異常がありSSを疑った場合、以下のように精査を進めていく。

1. 血液検査

膠原病のスクリーニングを行う。 γ グロブリン，リウマチ因子，抗核抗体のみでなく，抗SS-A/Ro抗体，抗SS-B/La抗体を測定する。抗SS-A/Ro抗体，抗SS-B/La抗体は，ELISA法による測定は感度が高い一方で，false positiveがあり得る。そこでこれらの抗体がELISA法

で陽性の場合、オクタロニー法で確認することが望ましい。

2. 外分泌腺の障害の証明

唾液腺障害の検査として、口唇小唾液腺生検、耳下腺シアログラフィ、唾液腺シンチグラフィ、涙腺障害の検査としてシルマーテスト、染色試験（ローズベンガルテスト、蛍光色素試験、リサミングリーン試験）を行う。シアログラフィは、造影剤を用いた従来法よりMRIによるシアログラフィのほうが侵襲が少ない⁸⁾。ただしMRIシアログラフィでは耳下腺内に貯留した唾液を描出するため、破壊と機能低下が進行した耳下腺では唾液が貯留せず評価を誤る可能性があるため、唾液分泌量の低下例では注意する。

眼科検査はたいいていのクリニックで可能であるが、リサミングリーンはわが国では保険適用がない。また前述のように、小児では眼科検査

では異常を認めない例が多い。

3. 判定

上記に示したように血液検査で自己免疫異常

表2 血液検査データのスコアリング
3か月以上の間隔で基準を満たす場合にカウントする

	基準	スコア
IgG 値	年齢の基準値の 97.5 パーセントイル以上*	1
抗核抗体	40~80 倍 160 倍 320 倍以上	1 2 3
リウマチ因子	≥ 15.0 U/L 以上	3
抗 SS-A/Ro 抗体または抗 SS-B/La 抗体のいずれか	オクタロニー法 ≥ 1 倍、ELISA 陽性基準以上	6

*：日本人小児の臨床検査基準値（日本公衆衛生協会刊）による。

表3 外分泌腺障害のスコアリング

a：唾液腺

検査	基準	スコア
① 口唇小唾液腺生検	細胞浸潤を認めるが、フォーカス（導管周囲に 50 個以上の単核球浸潤）< 1 個/4 mm ²	1
	フォーカスを、4 mm ² に 1 個以上認める	2
② 耳下腺シアログラフィ ⁹⁾	Rubin-Holt 分類の stage ≥ 1	2
③ 唾液腺シンチグラフィ	4 大唾液腺のいずれか一つ以上に取り込み低下または分泌の低下あり	1
④ 唾液分泌量の測定 ⁹⁾	サクソテスト ≤ 2.0 g/2 分または安静時唾液分泌量 ≤ 1.5 mL/15 分またはガムテスト ≤ 10 mL/10 分	1

⁹⁾：方法は、従来法および MRI シアログラフィのいずれでもよい。

⁹⁾：唾液分泌量は、単独ではスコアをカウントしない。

b：涙腺

検査と基準	スコア
シルマーテスト ≤ 5 mm/5 分かつローズベンガルテストで van Bijsterveld score ≥ 3	2
シルマーテスト ≤ 5 mm/5 分かつ蛍光色素試験で陽性	2
ACR スコア（角膜・結膜の染色） ⁹⁾ ≥ 3	2

⁹⁾：ACR クライテリアで採用されているリサミングリーンは、日本ではまだ保険適用がない。

表4 判定

	唾液腺スコアまたは涙腺スコア いずれかが ≥ 2	唾液腺スコア=1	唾液腺スコア 涙腺スコア いずれも0
血清スコア ≥ 6	Definite SS	Probable SS	Possible SS
血清スコア 5	Probable SS	Probable SS	Possible SS
血清スコア 4	Probable SS	Probable SS	Possible SS
血清スコア 3	Probable SS	Possible SS	※2
血清スコア 2	Probable SS	Possible SS	※2
血清スコア 1	Possible SS	Possible SS	※2
血清スコア 0	※1	※1	

※1：外分泌腺に異常はみられるが自己抗体やIgG値が基準を満たさない例

※2：外分泌腺に異常がないが自己抗体が陽性の例

を調べ、涙腺・唾液腺の異常を調べたら、これらをスコアリングする(表2, 3)。

血清スコアの合計、および唾液腺スコアの合計、あるいは涙腺スコアの内いずれか高いほうにより、表4のように判定する。

4. フォローアップ

SSは、SLEと異なり診断即治療開始とはならない例もある。しかし、多彩な全身症状が伴う例が少なくないことから、慎重な経過観察が必要である

経時的に集められた米軍の兵士の血清中の自己抗体を測定した研究では、最長でSLEを発症する9.4年前から自己抗体が陽性だった例があると報告されている⁹⁾。また、外分泌腺の異常が先にみられ、既知の自己抗体は後から陽性化する例もまれだがみられる。したがって、外分泌腺に異常がないが自己抗体が陽性の例、あるいは外分泌腺に異常はみられるが自己抗体やIgG値が基準を満たさない例(表4の※1に該当する患者)は、いずれSSを含めた何らかの膠原病を発症する可能性があることは患者と保護者に伝え、何らかの症状が出現した際には早め小児リウマチ専門医を受診していただくように話をしておく必要があると考える。

また、抗SS-A/Ro抗体陽性女性が妊娠した

場合には、児が新生児ループスや先天性心ブロックを発症するリスクがあり、妊娠中から胎児の経過観察が必要となる。このことは時期をみて患者に伝えておく必要があるだろう。

おわりに

SS患者であるスー・ドーフィンは、「多くの患者は、小児期に何らかの症状があったことを覚えている」と著書で述べている¹⁰⁾。このことから小児期にはSSは診断されていないことが示唆される。小児期のSSを診断、あるいは疑い症例をフォローすることにより、SSの病因・病態解明につながることも期待される。

文献

- 1) Tomiita M et al: The clinical features of Sjögren's syndrome in Japanese children. Acta Paediatr Japonica 1997; 39: 268-272
- 2) Fujikawa S, Okuni M: A nationwide surveillance study of rheumatic diseases among Japanese children. Acta Paediatr Japonica 1997; 39: 242-244
- 3) 武井修治: 小児シェーグレン症候群 SSの病態と臨床像—成人SSとの異同を中心に. 日本臨床免疫学会雑誌 2010; 33: 8-14
- 4) 富板美奈子, 河野陽一: 小児のシェーグレン症候群. 日本シェーグレン症候群学会(編); シェーグ

- レン症候群の診断と治療マニュアル改訂第2版, 診断と治療社, 2014: 184-194
- 5) 藤林孝司ほか: シェーグレン症候群改訂診断基準, 厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班 平成10年度研究報告書, 1999: 135-138
 - 6) Vitali C et al: Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European consensus group. Ann Rheum Dis 2002; 61: 554-558
 - 7) Shiboski SC et al: American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: A data-driven, expert consensus approach in the SICCA cohort. Arthritis Care Res 2012; 64: 475-487
 - 8) Tomiita M et al: Usefulness of magnetic resonance sialography in patients with juvenile Sjögren's syndrome. Clin Exp Rheumatol 2005; 23: 540-544
 - 9) Arbuckle MR et al: Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 2003; 349: 1526-1533
 - 10) Dauphin S: Understanding Sjögren's Syndrome. Pixel Pr 1993

金原出版ホームページで気になる新刊をcheck!

<http://www.kanehara-shuppan.co.jp/>



雑誌
最新号の特集内容やバックナンバーなどが一目でわかります。定期購読のお申し込みも簡単にできます。

新刊情報が満載
近刊情報や新刊書籍がすぐに探せます。オススメ情報はバナーで表示、書籍は「立ち読み」で内容をcheckできます。

人気のシリーズがすぐに検索可能
「癌取扱い規約」「診療ガイドライン」「患者さんとご家族のための本」が簡単に検索できます。レジデント向けや学会売れ行き好評書、教科書など知りたい情報がここにあります。

書籍・雑誌の購入は
ショッピングカート利用により、クレジットカードでの支払・コンビニ支払・代金引換支払から選択できます。



金原出版 〒113-8687 東京都文京区湯島2-31-14 TEL03-3811-7184 (営業部直通) FAX03-3813-0288
 [本の詳細、ご注文はこちらから](http://www.kanehara-shuppan.co.jp/)

II 全身性自己免疫疾患

小児科領域における自己免疫疾患(小児期発症型)

Sjögren 症候群

Sjögren's syndrome

富板美奈子

Key words: 自己免疫性外分泌腺症, 診断の手引き, 新生児ループス

1. 概念・定義

Sjögren 症候群(SS)は、涙腺・唾液腺を中心とした外分泌腺障害を特徴とする、全身性の炎症性疾患である。原因は不明であるが、患者の多くが自己抗体を産生すること、他の自己免疫疾患との合併も多いことから、自己免疫疾患と考えられている。外分泌腺障害が主となるため、自己免疫性外分泌腺症(autoimmune exocrinopathy)ともいわれるが、腺外臓器障害をきたすこともよく知られており、全身疾患と考えるべきである。

SSは他の膠原病を合併することがある。全身性エリテマトーデス(SLE)や若年性特発性関節炎(JIA)、若年性皮膚筋炎(JDM)などを合併した症例を二次性SS(secondary SS)、膠原病の合併のない症例を一次性SS(primary SS)と呼ぶ。また、臓器障害が外分泌腺に限局されている例を腺性SS、外分泌腺以外の臓器障害を伴う例を腺外性SSと呼ぶことがある。

2. 疫学

一般には中年女性に好発するといわれ、小児ではまれとされてきたが、実際にはそれほどまれではない^{1,2)}。

1995年に日本小児リウマチ研究会により行われた小児膠原病の全国調査では、一次調査で一次性SS・二次性SS合わせて70例が登録され、JIA 1,606人、SLE 906人、JDM/多発性筋炎

320人、混合性結合組織病(MCTD)93人について5番目に患者数が多かった³⁾。2000年に行われた、平成12年度厚生労働科学研究「若年性関節リウマチの実態調査とQOL向上の医療・行政的政策立案」での小児膠原病相談会登録症例からの推定有病率は10万人あたりJIA 9.74、SLE 4.70、JDM 1.74、SS 0.71であった³⁾。武井らは小児慢性特定疾患治療研究事業(小慢)に平成10-16年に新規登録された患者数が183人、これから小児のSSの有病率は小児人口10万人あたり0.53と計算している。さらに、小慢データと自施設の症例数を基に、鹿児島県での推定有病率を2.53と推定し、JIA、SLEについて多い疾患と述べている²⁾。

3. 病 因

他の膠原病と同様、原因は不明であるが、以下のようなメカニズムが想定されている。

(1) 何らかの遺伝的素因をもつ個体に環境因子が作用し、外分泌腺が傷害される。

(2) 傷害された外分泌腺局所で自己免疫機序が誘導され、炎症が慢性化し、外分泌腺は機能低下に陥る。

(3) さらに慢性の炎症過程において産生されるサイトカインや免疫複合体、活性化された炎症性細胞の浸潤などにより多彩な腺外症状、腺外臓器障害をきたす。

遺伝因子として特定のHLAやサイトカイン関連遺伝子の多型が関連するとの報告があるが、

Minako Tomiita: Department of Allergy and Rheumatology, Chiba Children's Hospital 千葉県こども病院 アレルギー・膠原病科

人種を越えて共通のものはない。

外分泌腺は外界と接する部位であり、環境要因としてウイルス感染が考えられる。これまでにEBウイルス、HTLV-1、コクサッキーウイルス、C型肝炎ウイルス、HIVでSS発症との関連がいられているが、C型肝炎ウイルス感染者、HIV感染者にみられるSS様の腺障害はprimary SSとは区別されている。

EBウイルスは唾液腺に感染するウイルスであり、SS患者の末梢血、唾液、口唇腺組織ではEBウイルスゲノムコピー数の上昇がみられ、涙腺でもEBウイルスのDNAが検出されている。SS患者では唾液腺でのEBウイルスの再活性化の際に自己抗原である120kDa α -fodrinが表出され、自己免疫応答が引き起こされるのではないかと推測されている⁹⁾。また、EBウイルスのviral interleukin(IL)-10ゲノムはヒトIL-10ゲノムと高い相同性をもつ。マウスの唾液腺でIL-10を過剰に発現させるとSS様の唾液腺炎が認められることから、EBウイルスが唾液腺で産生するIL-10がSS発症、増悪に関与していることも考えられる。

HTLV-1の感染者の多い長崎県の調査では、SS患者のHTLV-1陽性率は23.0%であり、献血者のHTLV-1陽性率3.6%に対し有意に陽性率が高い¹⁰⁾。SS患者の口唇小唾液腺組織の細胞とHTLV-1感染細胞とを共培養するとsoluble ICAM-1、RANTES、CXCL10などのケモカイン産生が亢進することから、HTLV-1陽性SS患者では、口唇小唾液腺への浸潤細胞の遊走や接着を起しやすき状況が作られている可能性がある。いずれのウイルスもすべての患者で陽性ではなく、triggerの一つと考えられる。

4. 病 態

基本的に、小児SSの病態は、成人と変わらない。

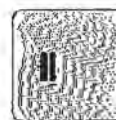
ウイルス感染などにより外分泌腺が傷害されると自己抗原の表出、サイトカインの産生が起こり、T細胞、樹状細胞などの炎症性細胞の浸潤が生じ、自己免疫応答が成立する。局所で産生されたサイトカインなどにより新たな細胞浸

潤、B細胞からの自己抗体産生が起こる。自己抗体と自己抗原の免疫複合体が樹状細胞を刺激してtype 1インターフェロンを産生させ、type 1インターフェロンはさらにT細胞、B細胞を活性化させて、局所の免疫反応が慢性化する。また、上皮の再生に関与するregeneration gene productに対する自己抗体が外分泌腺上皮の再生を妨げる¹¹⁾。

SSの外分泌腺組織の障害の機序は主として腺細胞・導管上皮細胞のアポトーシスであり、Fas/Fas ligandを介する系¹²⁾、パーフォリン・グランザイムを介する系、tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligandを介する系が患者の腺組織のアポトーシスに関与していることが報告されている。上皮細胞がアポトーシスを起こした結果、導管の拡張、腺細胞の消失、線維化が起こり、唾液の産生能・分泌能が失われる。また、形態的に正常に見える組織でも、抗M3ムスカリン作動性アセチルコリンレセプター抗体¹³⁾や、水チャネル分子のアクアポリン5の分布の異常により分泌機能の障害が生じている。

最も傷害される外分泌腺は唾液腺と涙腺である。唾液分泌低下、涙液分泌低下の結果として口腔乾燥、眼乾燥が出現する。小児では乾燥自覚症状を訴えることがほとんどないので、う歯の増加、口臭、起床時に口がねばねばする、ビスケットやクラッカーなどが水なしでは食べにくい、などを問診で確認する。反復性耳下腺腫脹も小児患者でよくみられる。涙液分泌の低下の自覚症状は「乾く」ではなく、眼がしょぼしょぼする、まぶしい、かゆい、疲れる、などと表現される。他の外分泌腺の障害の結果として、萎縮性胃炎、膀胱炎、鼻咽腔乾燥による上気道感染、汗の分泌低下による皮膚乾燥、腺分泌液減少による性交痛などが生じるが、小児では報告は少ない。

また、SSでは多彩な全身症状、腺外臓器障害を認める。慢性炎症によるサイトカイン産生異常は発熱や全身倦怠感などを引き起こす。外分泌腺以外の臓器にも炎症細胞が浸潤し、間質性肺炎や間質性腎炎が起こる。B細胞のポリクロ



全身性自己免疫疾患

ーナルな活性化によりγグロブリンが異常に産生され、高γグロブリン性紫斑や過粘稠度症候群をきたす。また、種々の自己抗体が産生され、自己免疫性の溶血性貧血や血小板減少症、免疫複合体による血管炎が生じる。

また、抗SS-A/Ro抗体をはじめとする自己抗体は多くがIgGクラスで胎盤通過性をもつため、移行抗体により胎児あるいは出産した児が新生児ループスや血小板減少症などを発症することがある。

小児SSと成人SSで大きく異なる点は、小児患者では免疫学的な異常、外分泌腺の異常は認めるが、機能障害が軽度であるという点である。

血液検査値では、自験例ではIgG高値(1,800 mg/dL以上)を78.6%、抗核抗体陽性(160倍以上)は82.1%に認めた。抗核抗体の染色パターンは、斑紋型が主であった。抗SS-A/Ro抗体陽性は78.6%に認めるが、SSに特異性が高いといわれる抗SS-B/La抗体は32.1%のみに陽性であり、これらの陽性率は成人SS患者での既報告とほぼ同様であった¹⁾。

外分泌腺障害に関する検査では、口唇小唾液腺生検の異常所見の陽性率は95.7%、耳下腺シアログラフィー Rubin-Holt分類のstage I以上は81.8%、唾液腺シンチグラフィーの異常は84.6%に認められた。一方、サクソテストの陽性者は35%と唾液分泌量は保たれている例が多い。眼科検査はさらに陽性率が低く、角結膜の染色試験で軽度の所見を認める程度である。

以上のことから、小児SSは成人のSSの発症早期の病態と考えられる。

5. 診断と鑑別診断

2015年現在、SSの診断には1999年の厚生省研究班によるシェーグレン症候群改訂診断基準²⁾、2002年のAmerican-European consensus groupによるヨーロッパ・アメリカ改訂分類基準³⁾、2013年のSICCA(Sjögren International Collaborative Clinical Alliance)/ACR(American College of Rheumatology)の分類基準⁴⁾の3つの基準が主に用いられている。これらはいずれ

も成人患者のデータを基に作成されており、小児に適しているとはいいがたい。そこで、日本シェーグレン症候群学会・日本小児リウマチ研究会合同ワーキンググループで、小児SSの診断の手引きを作成した(小児慢性特定疾病情報センターホームページ参照[<http://www.shouman.jp/medical/>])。

SSの基本病態は外分泌腺の障害と自己免疫異常であり、既存の3つの診断・分類基準は、いずれもこの2つを基にして作られている。小児の診断の手引きでは、血液検査所見と外分泌腺障害をそれぞれスコアリングし、2つのスコアの組み合わせで、definite SS, probable SS, possible SSと診断する(表1)。ウイルス性疾患(流行性耳下腺炎、HCV、HIV、EBウイルス感染症など)、悪性腫瘍、サルコイドーシス、GVHD、頭頸部への放射線照射の既往、Stevens-Johnson症候群による後遺症としての唾液腺・涙腺障害は除外する。

小児SS患者は乾燥自覚症状を訴えることはまずなく、症状は非特異的な発熱や関節痛、倦怠感などが多い。そこで、表2のような症状・検査所見をみた場合には、積極的にSSを疑って精査を進める。

鑑別診断には、他の膠原病、自己炎症性疾患、IgG4関連疾患、HTLV-1感染症、反復性耳下腺炎、線維筋痛症、慢性疲労症候群があげられるが、これらの一部の疾患は合併もありうる。

6. 治療と予後

治療は、外分泌腺の障害に対する治療と、腺外症状・臓器障害に対する治療に大別される。

1) 腺障害に対する治療

(1) 不足する体液の補充：点眼、人工唾液、うがいなどがある。点眼薬としてはヒアルロン酸、重症例にはヒアルロン酸と結膜上皮からのムチン産生を促進するジクアホソルナトリウムあるいはレバミピドの併用療法を行う。

(2) 体液喪失の予防：おおいつき眼鏡、涙点プラグなどによる涙点閉鎖、保湿剤によるスキンケアなどがあげられる。

(3) 残存組織の刺激による分泌促進：唾液分

表1 小児期シェーグレン症候群診断の手引き(抜粋)

診断方法

以下により、小児期シェーグレン症候群を診断する。

1) 血液検査、唾液腺障害、涙腺障害について、検査結果を以下のようにスコアリングする。

①血液検査データ(3カ月以上の間隔で基準を満たす場合にカウントする)

	基準	スコア
IgG 値	年齢の基準値の97.5パーセントイル以上*	1
抗核抗体	40倍~80倍	1
	160倍	2
	320倍以上	3
リウマトイド因子	≥15.0 U/L以上	3
抗SS-A/Ro抗体または抗SS-B/La抗体のいずれか	オクタロニー法≥1倍、ELISA陽性基準以上	6

*日本人小児の臨床検査基準値(日本公衆衛生協会刊)による。

②外分泌腺障害

a) 唾液腺

検査	基準	スコア
①口腔小唾液腺生検	細胞浸潤を認めるが、フォーカス(導管周囲に50個以上の単核球浸潤)<1個/4mm ² フォーカスを、4mm ² に1個以上認める	1 2
②耳下腺シアログラフィー*	Rubin-Holt 分類の stage ≥1	2
③唾液腺シンチグラフィー	4大唾液腺のいずれか一つ以上に取り込み低下または分泌の低下あり	1
④唾液分泌量の測定**	サクソントテスト ≤2.0g/2分または 安静時唾液分泌量 ≤1.5mL/15分または ガムテスト ≤10mL/10分	1

*方法は、従来法およびMRI シアログラフィーのいずれでもよい。

**唾液分泌量は、単独ではスコアをカウントしない。

b) 涙腺

検査と基準	スコア
シルマーテスト ≤5mm/5分かつローズベンガルテストで van Bijsterveld score ≥3	2
シルマーテスト ≤5mm/5分かつ蛍光色素試験で陽性	2
ACRスコア(角膜・結膜の染色)* ≥3	2

*ACRクライテリアで採用されているリサミンググリーンは、日本ではまだ保険適用がない。

2) 判定

血清スコアの合計、および唾液腺スコアの合計、あるいは涙腺スコアのいずれか高い方により、以下のように判定する。

definite SS

- 1) 涙腺スコアが2、かつ血清スコアが6以上
- 2) 唾液腺スコアが2以上、かつ血清スコアが6以上

probable SS

- 1) 唾液腺スコアが1、かつ血清スコアが4以上
- 2) 涙腺スコアが2、かつ血清スコアが2-5
- 3) 唾液腺スコアが2以上、かつ血清スコアが2-5

possible SS

- 1) 涙腺スコア2、あるいは唾液腺スコアが2以上で、血清スコアが1
- 2) 唾液腺スコアが1で血清スコアが1-3
- 3) 涙腺・唾液腺スコアがいずれも0であるが、血清スコアが4以上



全身性自己免疫疾患

表2 シェーグレン症候群の存在を示唆する所見

① 臨床症状・臓器障害

- ・全身症状：発熱，倦怠感，リンパ節腫脹，朝のこわばり，原因不明の全身の疼痛
- ・腺外臓器症状：関節痛・関節炎，環状紅斑など皮疹，紫斑，甲状腺腫，レイノー症状
- ・腺症状：反復性耳下腺腫脹，う菌の増加，口腔の痛み，口内炎の反復，ラズラ，繰り返す目の発赤，目の異物感・かゆみ
- ・(問診で確認) 摂食時よく水を飲む，口臭，涙が出ないなど

② 検査所見の異常(期間を3カ月以上あけて，2回以上陽性)

- ・唾液腺腫脹のはっきりしない時期の唾液腺型アミラーゼ高値
- ・年齢における97.5パーセント以上のIgG高値，あるいは高 γ グロブリン血症
- ・白血球減少，あるいはリンパ球減少
- ・赤血球沈降速度の亢進

③ 合併しやすい疾患

- ・橋本病，無菌性髄膜炎，間質性腎炎，血小板減少性紫斑病，ぶどう膜炎
- ・他の膠原病，特に全身性エリテマトーデス，混合性結合組織病，多関節型若年性特発性関節炎など
- ・線維筋痛症，慢性疲労症候群

泌の改善のための内服薬としてはプロムヘキシンなどの去痰薬，アネトールトリチオン，ムスカリン作動性アセチルコリンレセプターを刺激する塩酸セビメリンとピロカルピン，漢方薬(麦門冬湯)が用いられる。小児では，感冒治療にも用いる去痰薬が使いやすいが，効果はそれほど強くないので，ムスカリンレセプター刺激薬が必要な例もある。成人量から体表面積あるいは体重比で量を計算する。いずれも保険適用はないが，ピロカルピンは4週間の投与で大きな副作用なく効果が得られた¹⁵⁾。

ステロイドの外分泌腺障害に対する治療効果については，コンセンサスがなく，外分泌腺障害の予防効果についてのエビデンスもない。小児でステロイドの乾燥症状のみに対する長期運用は，副作用を考えると慎重であるべきである。ミゾリピンは小児ではループス腎炎に対して長年用いられており，安全性が確認されているので，使いやすい薬剤と考えられる。

2) 腺外症状・臓器障害に対する治療

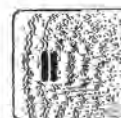
軽度の症状にはNSAIDsを用いるが，重要臓器の障害に対しては始めからステロイド，免疫

抑制薬をSLEに準じて使用する。末梢循環不全に対してはビタミンEの内服・外用，重症の場合にはプロスタグランジン製剤の静注を行う。ステロイドにより γ グロブリン値や抗SS-A/Ro抗体などの自己抗体価は低下するが，ステロイドの減量とともに再び上昇することが多い。高 γ グロブリン血症性紫斑や過粘稠度症候群の場合でなければ，通常 γ グロブリン値や抗SS-A/Ro抗体価は臨床症状と相関せず，これらはステロイド減量の指標とはならないことが多いので，治療の指標は個々の患者で検討するべきである。

1995年の全国調査では死亡例が1例報告されているが，死因は不明であった。悪性リンパ腫の発症は，これまでのところSSの診断と同時に悪性リンパ腫が見つかった1例のみで¹⁶⁾，長期経過で発症した例の報告はない。生命予後は悪くないと考えられる。経過中には新たな腺外臓器障害を呈する例，他の膠原病を合併してくる例や臓器障害に対してのステロイドの副作用などが問題となる例があるので，注意深いフォローが必要である。

■ 文 献

- 1) Tomiita M, et al: The clinical features of Sjögren's syndrome in Japanese children. *Acta Paediatr Jpn* 39: 268-272, 1997.
- 2) 武井修治: 小児シェーグレン症候群SSの病態と臨床像—成人SSとの異同を中心に. *日臨免疫会誌* 33: 8-14, 2010.
- 3) Cimaz R, et al: Primary Sjögren syndrome in paediatric age: a multicentre survey. *Eur J Pediatr* 162: 661-665, 2003.
- 4) Fujikawa S, et al: A nationwide surveillance study of rheumatic diseases among Japanese children. *Acta Paediatr Jpn* 39: 242-244, 1997.
- 5) 横田俊平: 若年性関節リウマチの実態調査とQOL向上の医療・行政的政策立案 平成12年度厚生科学研究費補助金研究報告書, p612-613, 2000.
- 6) Inoue H, et al: Possible involvement of EBV-mediated α -fodrin cleavage for organ-specific autoantigen in Sjögren's syndrome. *J Immunol* 166: 5801-5809, 2001.
- 7) Terada K, et al: Prevalence of serum and salivary antibodies of to HTLV-1 in Sjögren's syndrome. *Lancet* 344: 1116-1119, 1994.
- 8) Yoshimoto K, et al: Involvement of autoimmunity to REG, a regeneration factor, in patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 174: 1-9, 2013.
- 9) 富板美奈子ほか: 小児Sjögren症候群患者の口腔小唾液腺組織におけるアポトーシス. *小児科臨床* 57: 1083-1090, 2004.
- 10) Nakamura Y, et al: High prevalence of autoantibodies to muscarinic-3 acetylcholine receptor in patients with juvenile-onset Sjögren syndrome. *Ann Rheum Dis* 67: 136-137, 2008.
- 11) 富板美奈子, 河野陽一: 小児のシェーグレン症候群. シェーグレン症候群の診断と治療マニュアル(改訂第2版)(日本シェーグレン症候群学会編), p184-194. 診断と治療社, 2014.
- 12) 藤林孝司ほか: シェーグレン症候群改訂診断基準. 厚生省特定疾患自己免疫疾患調査研究班平成10年度研究報告書, p135-138, 1999.
- 13) Vitali C, et al: Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European consensus group. *Ann Rheum Dis* 61: 554-558, 2002.
- 14) Shiboski SC, et al: American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the SICCA cohort. *Arthritis Care Res* 64: 475-487, 2012.
- 15) Tomiita M, et al: Efficacy and safety of orally administered pilocarpine hydrochloride for patients with juvenile-onset Sjögren's syndrome. *Mod Rheumatol* 20: 486-490, 2010.
- 16) 福本由紀子ほか: MALTリンパ腫を合併した小児シェーグレン症候群の1例. *日臨免疫会誌* 23: 49-56, 2000.



全身性自己免疫疾患