

家族性地中海熱遺伝子関連腸炎の
診断法の確立並びに病態解明

研究分担者 仲瀬 裕志

札幌医科大学消化器内科学講座 教授

研究要旨：インフラマソームの活性化異常は種々の疾患発症に関与し、その1つに家族性地中海熱（Familial Mediterranean fever：以下FMF）が存在する。FMFは周期性発熱と漿膜炎を特徴とする遺伝性炎症性疾患（責任遺伝子はfamilial Mediterranean fever gene：以下MEFV）である。現在まで、FMFと腸管病変との関連についての研究は注目されていなかった。一方で、コルヒチン投与のみで寛解するIBD様の腸管病変を有するMEFV遺伝子関連腸炎症例が集積されつつある。今回、MEFV関連腸炎の臨床的特徴と発症機序に関連する研究を行った。Tel-Hashomer criteriaを満たす典型症例は約45%であった。全消化管に消化管病変が存在し、中でも、大腸（80%）次いで空腸（60%）に病変が多いことが明らかとなった。また、内視鏡的所見では、(a)潰瘍性大腸炎(UC)様の全周性粘膜所見 (b)偽ポリポーシス所見 (c) クロウン病(CD)類似の縦走潰瘍病変並びに狭窄など、多彩な内視鏡所見を呈した。日本人に多く認められる Exon2 変異はTLR反応性の違いを生じさせ、発症機序につながるものと考えられた。

共同研究者	化器内科学)
平山大輔（札幌医科大学消化器内科学講座）	上野伸展（旭川医科大学病院第三内科）
櫻井晃弘（札幌医科大学 遺伝医学）	大井秀久（いづろ今村病院消化器内科）
久松理一（杏林大学医学部消化器内科学）	柿本一城（大阪医科大学第二内科）
松本主之（岩手医科大学消化器内科消化管分野）	細見周平（大阪市立大学医学部附属病院消化器内科）
江崎幹宏（九州大学大学院病態機能内科学第二内科）	新崎信一郎（大阪大学医学部附属病院消化器内科）
国崎玲子（横浜市立大学附属市民総合医療センター 炎症性腸疾患センター）	横山 薫（北里大学医学部消化器内科学）
松浦 稔（京都大学医学部附属病院内視鏡部）	山本真義（北野病院脳神経内科）
大宮美香（関西医科大学内科学第3講座）	松野雄一（九州大学病院消化管内科）
荒木寛司（岐阜大学医学部光学医療診療部）	細江直樹（慶應義塾大学病院内視鏡センター）
渡辺憲治（兵庫医科大学腸管病態解析学）	大井 充（神戸大学医学部附属病院消化器内科）
田中浩紀（札幌厚生病院 IBD センター）	新井勝大（国立成育医療研究センター消化器内科）
小林 拓（北里大学大学院医療系研究科炎症性腸疾患先進治療センター）	都築義和（埼玉医科大学病院消化管内科）
日比紀文（北里大学大学院医療系研究科炎症性腸疾患先進治療センター）	安藤 朗（滋賀医科大学医学部附属病院消化器内科）
竹内 健（東邦大学医療センター佐倉病院 消化器内科学）	石川 大（順天堂大学医学部附属順天堂医院消化器内科）
鈴木康夫（東邦大学医療センター佐倉病院 消	

長末智寛（製鉄記念八幡病院消化器内科）
 櫻井俊之（東京慈恵会医科大学附属病院消化器・肝臓内科）
 白木 学（東北労災病院胃腸内科）
 酒見亮介（戸畑共立病院消化器病センター）
 松田耕一郎（富山県立中央病院消化器内科）
 南條宗八（富山大学附属病院 第三内科）
 吉川周作（土庫病院外科・大腸肛門病センター）
 中村正直（名古屋大学医学部附属病院消化器内科）
 小山文一（奈良県立医科大学消化器・総合外科）
 横山純二（新潟大学医歯学総合病院光学医療診療部）
 後藤田卓志（日本大学病院消化器内科）
 櫻庭裕丈（弘前大学大学院医学研究科消化器血液内科学講座）
 武田輝之（福岡大学筑紫病院消化器内科）
 大宮直木（藤田医科大学病院消化管内科）
 穂刈量太（防衛医科大学校病院消化器内科）
 吉田雄一郎（松山赤十字病院胃腸センター）
 荒木俊光（三重大学病院消化管外科）
 杉田 昭（横浜市立市民病院 炎症性腸疾患センター）

A. 研究目的

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

つつある IBD 患者群から本疾患を見出すため、MEFV 遺伝子関連腸炎の診断法の確立を目指す。

B. 研究方法

1. 対象 潰瘍性大腸炎/クローン病患者との診断がつかない分類不能腸炎 (IBDU) 患者。
2. 基本デザイン 観察的研究
3. 目標症例数 300 症例
4. 評価項目
 - (a) 分類不能腸炎患者の MEFV 遺伝子解析
 - (b) 分類不能腸炎患者の臨床情報の集積
 - b-1 臨床所見
 - b-2 小腸・大腸内視鏡所見/生検組織所見
 - (c) FMF 関連腸炎患者の腸内細菌叢解析
5. MEFV 遺伝子関連腸炎の発症機序の解明
 MEFV 遺伝子変異を導入したプラスミドを作製し、293T 細胞に transfection することで、NLRP3 を含めた inflammasome 経路の免疫反応に関する基礎的な検討を行った。

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

C. 研究結果

1. MEFV 遺伝子関連腸炎の臨床特徴を明らかにする目的で、内視鏡所見を始めとした臨床情報・遺伝子解析データを集積した (UMIN 登録 ID 000022289)。コルヒチン投与が行われた MEFV 遺伝子関連腸炎 97 症例の患者群を検討した結果、平均年齢は 40 歳、男女比は 1:1.7 で、やや女性に多い傾向が認められた。また、典型的な FMF 症

状(2~3日間続く高い発熱など)を伴わない患者は、全体の45%を占めることが明らかとなった。関節炎症状は42%の患者に認められた。

2. 消化管病変特徴: 全消化管に消化管病変が存在し、中でも、大腸(80%)次いで空腸(60%)に病変が多いことが明らかとなった。また、内視鏡的所見では、(a)潰瘍性大腸炎(UC)様の全周性粘膜所見 (b)偽ポリポーシス所見 (c)クローン病(CD)類似の縦走潰瘍病変並びに狭窄など、多彩な内視鏡所見を呈した。

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

C. 考察

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

domainであるPyrinをコードする領域である。Pyrinはcaspase-1により330番目のアスパラギン酸で切断され、I κ B degradationの誘導、NF- κ Bを活性化することが報告された。そこで、Exon2の変異pyrin domainを発現するプラスミドを作製、293T細胞に導入した。その結果、日本人で変異の頻度が高いE148Q、L110Pのアミノ酸置換を生じるExon2の変異が導入された細胞では、IL-1 β 、TNF- α の発現増強が確認された。Exon2変異によるアミノ酸置換を伴うピリン蛋白は炎症性サイトカインならびにNLRP3発現を誘導すること、患者の腸内細菌叢変化はMEFV遺伝子関連腸炎発症に関与する可能性が高く、さらなる発症機序解明に現在取り組んでいる。また、追加研究として、(a)MEFV遺伝子プロモーター・エンハンサー領域部分のイントロンを含めた遺伝子解析を追加。(b)IBDのdisease phenotypeとMEFV遺伝子変異との関連について研究。(c)FMF関連腸炎の発症機序の解明IBDU患者のOrganoids-iPS化システムをもちいた病態解明に取り組んでいる。

E. 結論

MEFV遺伝子関連腸炎の臨床的特徴、及び発症機序に関する研究成果をまとめた。さらなる研究を積み重ねることにより、本疾患診断基準作成ならびに発症機序の解明につなげていきたい。尚、本研究内容は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構の支援を受け、現在も継続中である。(研究開発課題名 家族性地中海熱関連腸炎の診断法確立と病態解明を目指す研究 課題番号 19188015)

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ichimiya T, Yamakawa T, Hirano T,

Yokoyama Y, Hayashi Y, Hirayama D,
Wagatsuma K, Itoi T, Nakase H. Autophagy
and autophagy-related diseases: a
review. Int J Mol Sci 2020;218974.

2. Wagatsuma K, Nakase H. Contradictory
effects of NLRP3 inflammasome regulatory
mechanisms in colitis. Int J Mol Sci
2020;21:8145

3. Saito D, Hibi N, Ozaki R, Kikuchi O,
Sato T, Tokunaga S, Minowa S, Ikezaki O,
Mitsui T, Miura M, Sakuraba A, Hayashida
M, Miyoshi J, Matsuura M, Nakase H,
Hisamatsu T. Digestion. 2020; 101:785-
793.

4. 横山佳浩、仲瀬裕志. 家族性地中海熱
の消化器病変 IBD Research2020;14:249-
254.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

本研究に関するものはなし。