

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08913

研究課題名(和文) 家族性地中海熱の「早期診断」と「精密医療の実現」に向けたバイオマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of biomarkers for "early diagnosis" and "realization of precision medicine" of familial Mediterranean fever

研究代表者

古賀 智裕 (Koga, Tomohiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教

研究者番号：90537284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：典型的な家族性地中海熱(FMF)と診断された患者、敗血症患者、および年齢をマッチさせた対照者118名を対象とした血清サイトカインビーズアレイ解析の結果、FMFと敗血症を鑑別するためのバイオマーカーとして、血清中のGM-CSF濃度とTNF- α 濃度の組み合わせが有用であることを提唱した。また、長崎大学病院の単施設コホート研究を行い、本邦の実臨床においてコルヒチン抵抗性またはコルヒチン不耐性の日本人FMF患者にカナキヌマブが有効かつ安全に使用できることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

家族性地中海熱(FMF)は不明熱の重要な鑑別診断であるが、FMFと敗血症では治療が大きく異なるために両者の区別を正確に行うことは臨床的に重要である。血清サイトカインを測定することにより診断能が向上する点を示した本研究は、患者の生命予後や生活の質を向上させる可能性が高く、社会的な意義が大きい。また、腫瘍壊死因子(Tumor Necrosis Factor, TNF)はFMFの重要な炎症性サイトカインであるが、敗血症患者よりも低いことが本研究で示された。この点に関してはFMFの病態を深く理解する上で、学術的意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Based on serum cytokine bead array analysis of 118 patients diagnosed with typical familial Mediterranean fever (FMF), sepsis, and age-matched controls, we proposed that the combination of serum GM-CSF and TNF- α concentrations is a useful biomarker to differentiate FMF from sepsis.

We also conducted a single-center cohort study at Nagasaki University Hospital and demonstrated that canakinumab can be used effectively and safely in Japanese FMF patients who are colchicine-resistant or colchicine-intolerant in actual clinical practice in Japan.

研究分野：リウマチ・膠原病内科学

キーワード：家族性地中海熱 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

家族性地中海熱(Familial Mediterranean fever: FMF)は、関節炎および漿膜炎による発熱の再発を特徴とする自己炎症疾患に分類される。病態に関しては不明な点が多いものの、pyrin をコードする地中海熱(MEFV)遺伝子の多型/変異が、FMFの疾患感受性遺伝子として病因と密接に関連している。pyrin は NLRP3 インフラマソームの負の調節に関与しているため、pyrinの機能不全は NLRP3 インフラマソームの活性化により IL-1 β や IL-18 を含む炎症性サイトカインの産生増加を介して過剰な炎症を引き起こす。これらのサイトカインは、TNF- α および IL-6 の量を増加させる NF κ B シグナル伝達経路を活性化する(図1)。

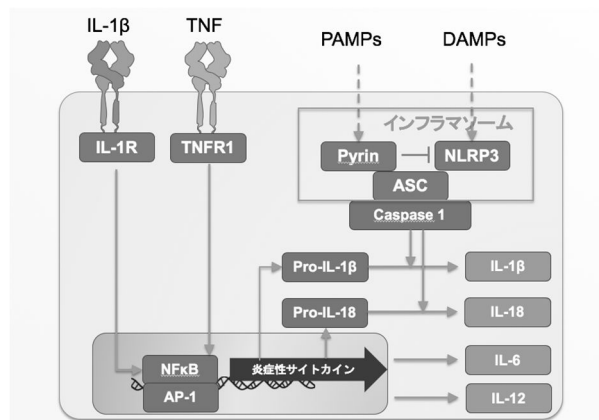


図1 家族性地中海熱におけるインフラマソームとサイトカイン

FMFの病態における炎症性サイトカインの役割を明らかにするために、研究代表者らは日本人 FMF 患者 75 名と健常人 40 名における血清サイトカインアレイを用いた網羅的解析を行った。ランダムフォレスト法におけるサイトカイン重要度ランキングを図2に示す。ロジスティック回帰分析を行った多変量分類アルゴリズムの結果、IL-6、IL-18 および IL-17 の組み合わせ測定は、健常人と FMF 患者発作期を示すバイオマーカーとして最高の精度を示した(感度 89.2%、特異度 100%、正確度 95.5%)。また、FMF 患者の中で、IL-6、G-CSF、IL-10 および IL-12p40 の併用測定は、最も高い精度(感受性 75.0%、特異度 87.9%、正確度 84.0%)で発作期と非発作期を識別した(Koga T, et al. Medicine 2016; 95: e3449)。

また、次世代シーケンサーを用いて 266 名の日本人 FMF 患者における MEFV 遺伝子の全塩基配列を決定し、エクソン 10 における M694I とエクソン 2 における E148Q の重要性を示すだけでなく、日本人における各変異/多型のオッズ比を明らかにした(Koga T, et al. Clin Exp Rheumatol. 2020 Sep-Oct;38 Suppl 127(5):35-41.)。

上記の知見は、FMFの診断において血清サイトカインプロファイルとゲノム解析の両者が診断の精度や予後予測の精度を高めることが示唆されるが、日本人は発症年齢が比較的高齢である点、非典型的な発作を有する FMF が多い点、東北のゲノムデータベース(<http://ijgvd.megabank.tohoku.ac.jp/>)における E148Q の日本人の多型アリル頻度が 22% と高い点、FMF を含めた自己炎症疾患に対する認知が内科医において不十分である点から、現時点で日本における FMF の早期診断に関しては解決すべき課題が多い。また治療に関してはコルヒチンが第一選択であるがコルヒチン無効例が約 10% に存在する。現時点で治療反応性を予測する因子は明らかでない。したがって FMF の診断精度の向上および予後予測に関する日本独自のエビデンスの創出のための大規模コホート研究が望まれる。

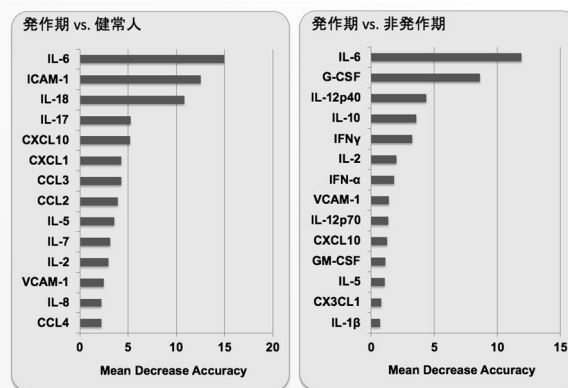


図2 ランダムフォレスト法によるFMF患者血清解析

2. 研究の目的

本研究では臨床情報が統合された FMF レジストリを活用し、ゲノム解析、血清サイトカイン解析、免疫学的解析と FMF 重症度・予後に関連する因子を同定し日本における FMF の臨床的特徴を明らかにすることで FMF の早期診断と精密医療の実現に直結するエビデンスを確立することを目的とする。また、FMF と敗血症を鑑別するための潜在的バイオマーカーを同定すること、日本人のコルヒチン抵抗性あるいはコルヒチン不耐性の FMF 患者を対象に、カナキマブの有効性と安全性を実臨床で評価することを目的とした。

3. 研究の方法

先行研究で FMF の発症に関連する MEFV 遺伝子の解析は完了しているが、臨床病型、重症度、予後、治療反応性に関連する多型/変異は明らかでない。本研究では、FMF の臨床情報を前向きおよび後ろ向きに詳細に収集しレジストリを拡充することにより、(1)典型例、非典型例の病型

分類、(2)コルヒチンの治療反応性、(3)アミロイドーシス合併重症例と関連する MEFV 遺伝子多型/変異を同定する。

FMF と敗血症のバイオマーカー研究において、典型的な FMF と診断された患者(Tel Hashomer 基準による) 28 名、敗血症患者 22 名、および年齢をマッチさせた対照者 118 名を募集した。40 種類のサイトカインの血清レベルを、multi-suspension cytokine array を用いて解析した。特定の分子ネットワークを特定するために、FMF 群と敗血症群における各サイトカインのクラスター分析を行った。多変量解析(ランダムフォレスト解析)およびロジスティック回帰分析により、サイトカインの重要度をランク付けし、FMF と敗血症を鑑別するための特異的バイオマーカーを決定した。

カナキマブの有効性と安全性を評価する研究においては、2017 年 10 月から 2020 年 12 月までの期間にカナキマブが導入された日本人 FMF 患者 13 例を検討した。全例が Tel-Hashomer 基準により FMF と診断された。標的次世代シーケンサーによる地中海熱または MEFV の遺伝子解析を実施した。有効性は、発作頻度と 24 週時点の発作改善達成率で評価した。安全性は、カナキマブ投与中に観察された有害事象で評価した。

4. 研究成果

FMF と敗血症のバイオマーカー研究において、40 種類のサイトカインのうち 15 種類がさらなる解析に適していることが判明した。血清中の GM-CSF、FGF-2、VEGF、MIP-1 β 、IL-17 は有意に上昇したが、TNF- α は敗血症患者に比べ有意に低値であった(図 3)。サイトカインのクラスタリングパターンは両群で異なっていた。GM-CSF と TNF- α の測定は、FMF と敗血症を高い精度で識別することができた(カットオフ値: GM-CSF = 8.3 pg/mL; TNF- α = 16.3 pg/mL, 感度 92.9%; 特異度 94.4%; 精度 93.4%)。したがって、血清 GM-CSF と TNF- α の組み合わせは、FMF と敗血症の鑑別診断のためのバイオマーカーとなり得ることを提唱した。上記の結果は Arthritis Research and Therapy 誌に受理された。

(Arthritis Res Ther. 2021 Oct 15;23(1):260. doi: 10.1186/s13075-021-02644-2.)

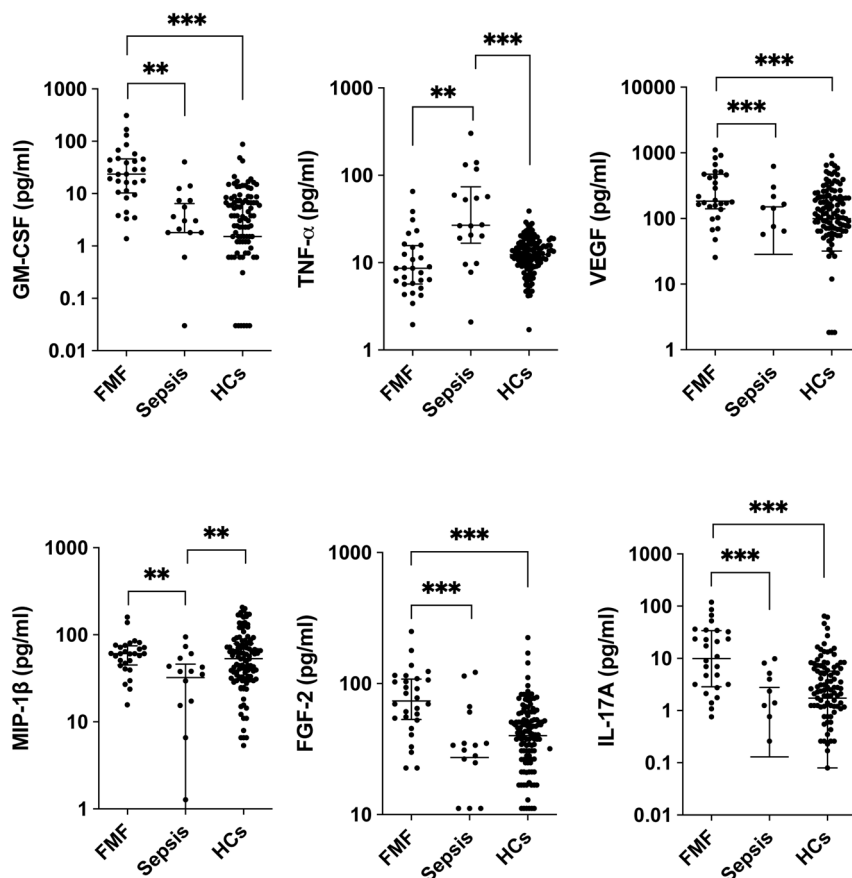


図 3 FMF および敗血症患者の血清中 GM-CSF, TNF- α , VEGF, MIP-1 β , FGF-2, IL-17A のマルチプレックスサイトカインビーズアッセイ

カナキマブの有効性と安全性を評価する研究においては、カナキマブの投与期間とフォローアップの中央値はそれぞれ 13 カ月と 16 カ月であった。24 週目の発作頻度中央値は 0.50 [0.30-1.00] で、導入時の 2.00 [0.85-2.88] から有意に減少した (p = 0.019)。24 週目に発作が完全に消失した患者は 3 名 (23%) であった。重篤な有害事象は観察されなかった。しかし、1 名の患者に小腸潰瘍が発生し、カナキマブの投与が中止されるに至った。本邦の実臨床において、コルヒチン抵抗性またはコルヒチン不耐性の日本人 FMF 患者にカナキマブが有効かつ安全に使用できることが示唆された。上記の結果は Modern Rheumatology 誌に受理された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Koga T, Sato S, Mishima H, Migita K, Endo Y, Umeda M, Sumiyoshi R, Nonaka F, Fukui S, Kawashiri SY, Iwamoto N, Ichinose K, Tamai M, Nakamura H, Origuchi T, Ueki Y, Masumoto J, Agematsu K, Yachie A, Yoshiura KI, Eguchi K, Kawakami A.	4. 巻 38
2. 論文標題 Next-generation sequencing of the whole MEFV gene in Japanese patients with familial Mediterranean fever: a case-control association study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Exp Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 35-41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Endo Y, Koga T, Hara K, Furukawa K, Agematsu K, Yachie A, Masumoto J, Migita K, Kawakami A.	4. 巻 38
2. 論文標題 The possession of exon 2 or exon 3 variants in the MEFV gene promotes inflammasome activation in Japanese patients with familial Mediterranean fever with a heterozygous exon 10 mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Exp Rheumatol.	6. 最初と最後の頁 49-52
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tomokawa T, Koga T, Endo Y, Michitsuji T, Kawakami A.	4. 巻 -
2. 論文標題 Efficacy and safety of canakinumab for colchicine-resistant or colchicine-intolerant familial Mediterranean fever: A single-centre observational study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/mr/roab048.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koga T, Furukawa K, Migita K, Morimoto S, Shimizu T, Fukui S, Umeda M, Endo Y, Sumiyoshi R, Kawashiri SY, Iwamoto N, Ichinose K, Tamai M, Origuchi T, Maeda T, Yachie A, Kawakami A.	4. 巻 23
2. 論文標題 Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and tumor necrosis factor- in combination is a useful diagnostic biomarker to distinguish familial Mediterranean fever from sepsis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13075-021-02644-2.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tomohiro Koga, Yushiro Endo, Kaori Furukawa, Kazunaga Agematsu, Akihiro Yachie, Junya Masumoto, Kiyoshi Migita, Atsushi Kawakami
2. 発表標題 Combined effect of common variants in exon 2 or exon 3 and a pathogenic mutation in exon 10 of the Mediterranean fever gene on inflammasome activation in Japanese patients with familial Mediterranean fever
3. 学会等名 欧州リウマチ学会2020（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomohiro Koga, Kiyoshi Migita, Yushiro Endo, Remi Sumiyoshi, Fumiaki Nonaka, Shin-ya Kawashiri, Naoki Iwamoto, Kunihiro Ichinose, Mami Tamai, Hideki Nakamura, Tomoki Origuchi, Kazunaga Agematsu, Junya Masumoto, Akihiro Yachie, Katsumi Eguchi, Atsushi Kawakami
2. 発表標題 Next-generation sequencing of the whole MEFV gene in Japanese patients with familial Mediterranean fever: case-control association study
3. 学会等名 日本リウマチ学会（JCR 2019 International Concurrent Workshop）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古賀 智裕, 右田 清志, 遠藤友志郎, 住吉 玲美, 野中 文陽, 江口 勝美, 川上 純
2. 発表標題 次世代シーケンサーを用いた日本全域の家族性地中海熱患者におけるMEFV遺伝子の 包括的解析
3. 学会等名 第116回日本内科学会講演会 プレナリーセッション（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	吉浦 孝一郎 (Yoshiura Koh-ichiro) (00304931)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	右田 清志 (Migita Kiyoshi) (60264214)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究分担者	浦野 健 (Urano Takeshi) (70293701)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授 (15201)	
研究分担者	田中 義正 (Tanaka Yoshimasa) (90280700)	長崎大学・先端創薬イノベーションセンター・教授 (17301)	
研究分担者	川上 純 (Kawakami Atsushi) (90325639)	長崎大学・医歯薬学総合研究科（医学系）・教授 (17301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関