

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2010 ~ 2012

課題番号：22591155

研究課題名（和文） 周期性発熱、アフタ性口内炎、咽頭炎、リンパ節症候群の病態解析と診断治療法の確立

研究課題名（英文） Diagnosis and treatment of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome

研究代表者

上松 一永 (AGEMATSU KAZUNAGA)

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：60262721

研究成果の概要（和文）：

周期性発熱、アフタ性口内炎咽頭炎、リンパ節症候群の臨床像と診断のためのバイオマーカーについて検討した。サイトカインプロファイルと CD64 発現による好中球活性化の評価では、発作時に IFN- $\gamma$  が上昇する傾向がみられた。好中球表面 CD64 分子は、他の自己炎症疾患や細菌感染症と比較して、発作時に著明にその分子数が上昇しており、本症の早期診断法として有用と考えられた。本症の診断の補助として、発作時の好中球/単球 CD64 高発現が有用であった。

研究成果の概要（英文）：

The syndrome of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) is the most common periodic fever disease in children. We examined clinical findings and the utility of CD64, namely Fc $\gamma$ -RI expression on polymorphonuclear neutrophils and monocytes in diagnosing patients with PFAPA. Although CD64 was expressed at a similar level in the attack-free period of PFAPA and controls, CD64 expressions on both neutrophils and monocytes was dramatically increased during attacks. In addition, serum IFN- $\gamma$  also increased in some PFAPA patients during flares, suggesting the involvement of T-cell activation. Our findings demonstrate that remarkable CD64 expression during PFAPA flares serves as a potential biomarker for the diagnosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：臨床免疫学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：周期性発熱、自己炎症疾患, CD64

## 1. 研究開始当初の背景

周期性発熱、アフタ性口内炎咽頭炎、リンパ節症候群 (periodic fever, aphthous

stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis syndrome : PFAPA) は、口内炎、リンパ節炎、扁桃炎・咽頭炎を伴う発熱発作を

反復する原因不明の自己炎症性症候群で、頭痛、咽頭痛、嘔吐を認めることもある。発熱期間は数日から1週間で発熱間隔は月に1回が多い。発症年齢は3-4歳に多いが成人発症もみられる。発熱時にCRPがきわめて高値になる。本症は、比較的発症頻度が高いと考えられているが、確定診断法がないため、診断に苦慮されている場合も多く、その病態解明や的確な診断法の確立が望まれている。また、非典型的な症例も多く、診断補助となるバイオマーカーの同定が期待されている。

Fcγ-受容体 (Fcγ-R) は、IgG の Fc 部分結合し、オプソニン作用として働く。Fcγ-R は親和性が異なる3種類、すなわち、Fcγ-RI (CD64)、Fcγ-RII (CD32)、Fcγ-RIII (CD16) からなり、好中球、単球/マクロファージ、NK細胞などに発現している。CD64はモノマーIgGに結合し、高親和性レセプターと分類され、IFN-γやG-CSFによって発現が高まる。最近、好中球のCD64表現は、細菌性感染症の診断のパラメータとして注目されている。

治療は、シメチジンの予防内服、発作時の副腎皮質ステロイド薬投与、扁桃摘出が有効であるものの、どの治療を選択するかについては施設ごとの判断に任されているのが現状である。また、IL-1beta阻害薬など新たな治療法の展開が必要とされている。

## 2. 研究の目的

臨床像、検査所見を明らかにし、免疫学的手法や遺伝子解析などから本症の病態を明らかにし、診断法を確立する。さらに、PFAPA患者における血清サイトカインプロファイル、MEFV遺伝子解析、CD64発現を検討し、診断のためのバイオマーカーを見出すことも目的とした。こうした病態解明から治療法の発展をはかりたい。

## 3. 研究の方法

信州大学ならびに関連の病院でフォローしている小児PFAPAの100例と成人PFAPAの5例について、下記の解析を行った。

### 1) 臨床像；

発症年齢、発熱期間、発熱間隔、随伴症状(白苔を伴う扁桃炎、頸部リンパ節腫

大、口内炎)。家族歴の有無。治療効果について。

- 2) 検査所見；白血球増多、CRP高値、IgD上昇について。
- 3) 免疫学的解析；CD64発現による好中球および単球活性化の検討。  
FACSで測定。
- 4) 家族例を中心に、家族性地中海熱の責任遺伝子MEFVの遺伝子解析。  
Direct sequence法で行う。
- 5) 発作時の血清サイトカイン値の測定。  
Beads flex法とELISA法で行う。

## 4. 研究成果

### 1) 臨床像；

発症年齢は3-4歳に多く、1歳以下や成人発症も認められた(写真1)。発熱期間は2-7日間が多く、最長は8日間であった。発熱間隔は1か月が最も多く、2週間毎や3か月ごとなどもみられた。随伴症状は白苔を伴う扁桃炎が多く(写真1)、頸部リンパ節腫大、口内炎も50-70%で随伴がみられた。その他、嘔吐を繰り返す症例や頭痛や咽頭痛を随伴する症例もみられた。家族歴が40%で認められ、母親方または父親方のどちらかの家系に同症状を呈する親や祖父母などが認められた。治療効果は、シメチジンが70%有効で、副腎皮質ホルモン薬は100%で有効であった。扁桃摘出を行ったすべての患者で再発はみられなかった。

- 2) 検査所見；発作時に白血球増多を認めることが多いが、増加しない例もみられた。発作時にCRPはほとんどが高値を呈した。血清IgD値の上昇が約30%で認められた。
- 3) CD64発現による好中球および単球活性化の検討では、発作時に両細胞表面にきわめて強い発現を認め、発作間歇時には正常化した。他の自己炎症疾患や細菌感染症ではこのようなCD64発現高値を呈さないため、本方法はPFAPAの診断にきわめて有用と思われた(図1A,B)。
- 4) 家族性地中海熱の責任遺伝子MEFVのE148Q変異が明らかに正常人の23%に比

し45%と多かったが、家族解析では必ずしも親の変異患者のE148Q変異が患者の児に伝わっていないこともあり、発症に関して有意差ははっきりしなかった。

5) 発作間欠時と発熱発作時の血清 IL-18, IL-1beta, IL-6, IL-8, TNF-alpha, IFN-gamma 値を ELISA あるいは flex beads 法で測定した。特に発熱発作初期において、一部の患者で IFN-gamma の上昇を認めた。IL-18 は発作後遅れて上昇する傾向がみられたが、家族性地中海熱発作間欠期ほどの値ではなく軽度の上昇だった(図2)。対象とした川崎病の発作時では、IFN-gamma の上昇はなく、IL-18 値は PFAPA 発作時と同程度であった。

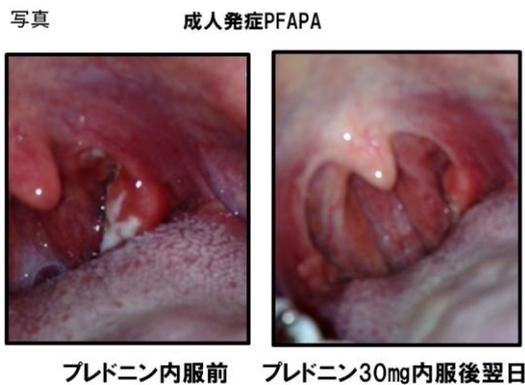


図 1A 好中球 CD64 分子数

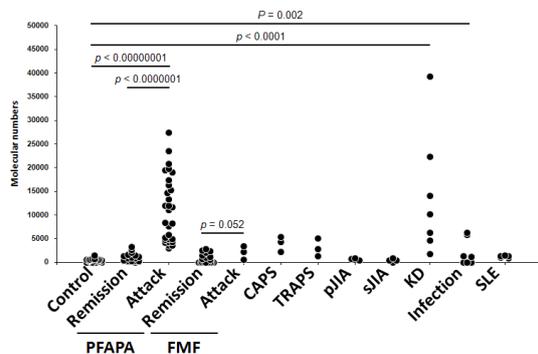


図 1B 単球 CD64 分子数

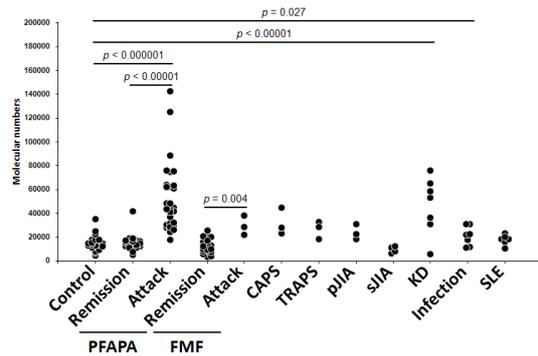
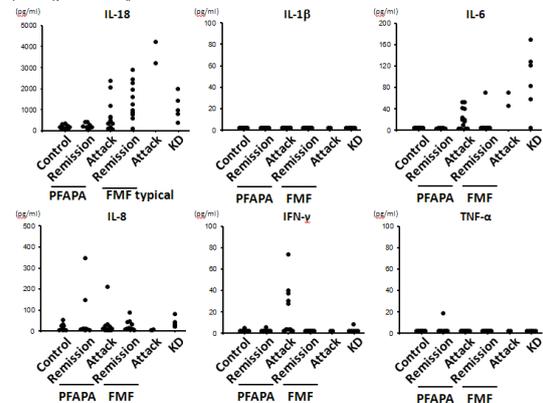


図2 血清サイトカイン値



### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Wada T, Toga A, Sakakibara Y, Toma T, Shigemura T, Agematsu K, Yachie A. Clonal expansion of Epstein-Barr virus (EBV)-infected  $\gamma \delta$  T cells in patients with chronic active EBV disease and hydroa vacciniforme-like eruptions. *Int J Hematol.* 2012 Oct;96(4):443-9. DOI 10.1007/s12185-012-1156-0 査読有
2. Migita K, Ida H, Moriuchi H, Agematsu K. Clinical relevance of MEFV gene mutations in Japanese patients with unexplained fever. *J Rheumatol.* 2012 Apr;39(4):875-7. DOI:10.3899/jrheum.110700 査読有
3. Saito M, Nagasawa M, Takada H, Hara T, Tsuchiya S, Agematsu K, Yamada M, Kawamura N, Ariga T, Tsuge I, Nonoyama S, Karasuyama H, Minogishi Y. Defective IL-10 signaling in hyper-IgE syndrome

- results in impaired generation of tolerogenic dendritic cells and induced regulatory T cells. *J Exp Med.* 208; 235-49, 2011. doi: 10.1084/jem.20100799 査読有
4. Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, Okada S, Kobayashi M, Agematsu K, Takada H, Mitsui N, Oshima K, Ohara O, Suri D, Rawat A, Singh S, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Reichenbach J, Seger R, Ariga T, Hara T, Miyawaki T, Nonoyama S. Quantification of  $\kappa$ -deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol.* 28;223-225, 2011 doi:10.1016/j.jaci.2011.02.022 査読有
  5. Migita K, Agematsu K, Yamazaki K, Suzuki A, Yazaki M, Jiuchi Y, Miyashita T, Izumi Y, Koga T, Kawakami A, Eguchi K. Expression of CD64 on polymorphonuclear neutrophils in patients with familial Mediterranean fever. *Clin Exp Immunol.* 164; 365-72, 2011 doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04380.x 査読有
  6. Shigemura T, Agematsu K, Yamazaki T, Sakashita K, Nakayama Y, Higuchi Y, Matsuda K, Koike K. A case of Behcet's disease associated with myelodysplastic syndrome involving trisomy 8 and a gain-of-function mutation in SHP-2. *Rheumatology.* 50; 1342-4, 2011 doi:10.1093/rheumatology/ker137. 査読有
  7. Shigemura T, Yamazaki T, Hara Y, Ou JN, Stevens AM, Ochs HD, Koike K, Agematsu K. Monitoring serum IL-18 levels is useful for treatment of a patient with systemic juvenile idiopathic arthritis complicated by macrophage activation syndrome. *Pediatr Rheumatol Online J.* 13;9(1):1, 2011 doi: 10.1186/1546-0096-9-15. 査読有
  8. 右田清志、上松一永. 家族性地中海熱の臨床. *日本臨床免疫学会誌* 34: 335-360, 2011. 査読無
  9. 上松一永, 角田裕幸, 高本雅哉 自己炎症症候群の多様性 家族性地中海熱わが国と欧米の差異 炎症と免疫 2011 査読無
  10. Koichi Oshima, Kazuko Yamazaki, Yoichi Nakajima, Akari Kobayashi, Tomochika Kato, Osamu Ohara, Kazunaga Agematsu. A case of Familial Mediterranean fever associated with compound heterozygosity for the pyrin variant L110P-E148Q/M680I in Japan. *Modern Rheumatology* 20:193-5, 2010. doi: 10.1007/s10165-009-0249-y. 査読有
  11. Yamazaki K, Yamazaki T, Taki S, Miyake K, Hayashi T, Ochs HD, Agematsu K. Potentiation of TLR9 responses for human naïve B-cell growth through RP105 signaling. *Clin Immunol.* 135:125-36, 2010. doi: 10.1016/j.clim.2009.12.013. 査読有
  12. Seki M, Kimura H, Mori A, Shimada A, Yamada Y, Maruyama K, Hayashi Y, Agematsu K, Morio T, Yachie A, Kato M. Prominent eosinophilia but less eosinophil activation in a patient with Omenn syndrome. *Pediatr Int.* 52; 96-9, 2010. doi: 10.1111/j.1442-200X.2010.03135.x. 査読有
  13. 大谷寛, 中西里永子, 山田秀樹, 向山新, 布村眞季, 山崎和子, 上松一永. 周期性発熱を呈し臨床的に TNF receptor-associated periodic syndrome (TRAPS) と診断した成人女性の 1 例. *日本内科学会雑誌* 99; 1058-1060, 2010. 査読有
  14. 上松一永, 角田裕幸, 小池健一. 日本小児科学会教育講演総説 自己炎症性疾患の最近の話題. *日本小児科学会誌* 114; 1613-1614, 2010. 査読無
- [学会発表] (計 1 件)
1. 上松一永: 家族性地中海熱とその鑑別疾患について 大阪免疫研究会 大阪 2012年12月8日
- [図書] (計 2 件)
1. 山崎崇志、伯耆原祥、上松一永. 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 (PFAPA) 自己炎症性疾患・自然免疫不全症・近縁疾患 診断と治療社 東京 2012年, pp. 188-189
  2. 伯耆原祥、山崎崇志、上松一永. 周期性発熱・アフタ性口内炎・咽頭炎・リンパ節炎症候群の1 女児例. 自己炎症性疾患・自然免疫不全症・近縁疾患 診断と治療社 東京 2012年, pp. 238-240
- [その他]
- ホームページ  
e-血液 <http://www.e-ketsueki.com/>  
e-免疫.com 家族性地中海熱性
6. 研究組織
    - (1) 研究代表者  
上松一永 (AGEMATSU KAZUNAGA)  
信州大学・医学部・准教授  
研究者番号: 60262721

(2) 研究分担者

小林 法元 (KOBAYASHI NORIMOTO)

信州大学・医学部・助教

研究者番号：00362129