

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08899

研究課題名(和文) 新しい炎症ユニットPyrinインフラマソームの慢性炎症疾患における役割の検討

研究課題名(英文) Examination of the role of the new inflammation unit Pyrin inflammasome in chronic inflammatory diseases

研究代表者

井田 弘明 (IDA, Hiroaki)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：60363496

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：家族性地中海熱(FMF)の病態に重要なPyrinインフラマソームの活性化機構、特に本邦に多いMEFVエクソン2変異E148Qの意義を解析した。まず、本邦初のPAAND患者由来iPS細胞を樹立、好中球分化はできたが、十分量の数を確保できなかった。不明熱患者の臨床像、遺伝子変異の解析では、E148Q変異を含むコンパウンドヘテロ接合グループは、E148Q変異ヘテロ接合グループよりも、FMF診断率が有意に高かった。つまり、E148Q変異は、E148Q変異に他のMEFV変異が加わることで他のリスク対立遺伝子の修飾因子として作用、疾患感受性に対する閾値を低下させ、FMF発症に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦初のPAAND患者由来のiPS細胞を樹立(細胞バンク登録)できたことは、今後のPyrinインフラマソーム解析に役立つツールとなると考えられる。本邦に多いMEFVエクソン2変異の解釈として、E148Q変異が疾患感受性に対する閾値を低下させ、FMF発症に寄与する可能性が示唆されたことは、学術的にも意義がある。本邦で臨床的にも変異の解釈で問題となっているE148Q変異への考え方に一石を投じたと思われる。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the activation mechanism of the Pyrin inflammasome, which is important for the pathophysiology of familial Mediterranean fever (FMF), and the significance of the MEFV exon 2 variant E148Q, which is especially common in Japan. First, we established the iPS cells derived from the first PAAND (pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis) patient in Japan and were able to differentiate into neutrophils, but we could not secure a sufficient number. In the clinical picture of patients with fever of unknown origin and analysis of gene variants, the compound heterozygotes group containing the E148Q variant had a significantly higher FMF diagnosis rate than the E148Q variant heterozygotes group. It was suggested that the E148Q variant acts as a modifier of other risk alleles by adding other MEFV variants to the E148Q variant, lowers the threshold for disease susceptibility, and contributes to the onset of FMF.

研究分野：自己炎症性疾患

キーワード：Pyrinインフラマソーム MEFV S242R E148Q

## 1. 研究開始当初の背景

自己炎症性疾患で最も患者数が多い FMF 患者における Pyrin インフラマソームの活性化は、従来考えられていた Loss of function ではなく、Gain of function による活性化機構の存在が近年解明された。Pyrin ドメイン(PYD)と B box(B)との間の領域に 14-3-3 蛋白が Pyrin のリン酸化部位と結合することで、Pyrin インフラマソームの活性化は抑制されている。この結合部位は、*MEFV* エクソン 2 領域にあたる。エクソン 2 領域の遺伝子変異とエクソン 10 領域の遺伝子変異によって Pyrin インフラマソームは活性化されると推測される (Curr Opin Rheumatol 29:187-194, 2017)。本邦では、*MEFV* のエクソン 10 以外に変異がある遺伝子多型(特にエクソン 2)の患者が多く、不完全型と言われている。この不完全型は、*MEFV* 遺伝子変異はあるものの、その変異による Pyrin 蛋白の構造変化が、発熱や各臓器の局所症状にどれほど影響を与えているか全く不明である。私たちは、不明熱・周期熱患者において遺伝子検索を行ってきたが、遺伝性自己炎症性疾患遺伝子のうち、*MEFV* が最も変異が多く、実に 59.1%の症例にも及ぶ。健常者にも存在する変異であるが、不明熱・周期熱患者の頻度は有意に高く、*MEFV* 変異に伴う Pyrin 蛋白の変化が、炎症への修飾因子である可能性は高い。近年、*MEFV* のエクソン 10 以外の変異の中で *MEFV* エクソン 2 の部位の変異が注目されてきている。しかし、この部位の変異が欧米にほとんどないため研究は進んでいない。

## 2. 研究の目的

私たちは、全国の不明熱・周期熱症例の遺伝子検索をする中で、本邦初の PAAND(pyrrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis) 患者 (Sci. Transl. Med. 8:332ra45, 2016) に遭遇した。*MEFV* エクソン 2 の 242 番目のセリン残基は、Pyrin インフラマソーム活性化を抑制する 14-3-3 蛋白のリン酸化 Pyrin との結合部位であり、この患者では、セリン残基がアルギニン残基へ変化していた(S242R)。そのため、14-3-3 蛋白が Pyrin と結合できず、Pyrin インフラマソームが活性化され、慢性炎症と皮膚病変が持続していると考えられている。Pyrin インフラマソームの活性化機構を解析するため、この患者から iPS 細胞を樹立する。さらに、*MEFV* エクソン 2 の部位の変異で有名な E148Q 変異の意義について、周期熱患者の臨床像で解析する。

## 3. 研究の方法

- 1) 患者から毎回好中球を分離して研究することは難しいため、京都大学 iPS 細胞研究所と共同で、疾患特異的 iPS 細胞を作成する。疾患特異的 iPS 細胞から好中球へ分化させ、Toxin 刺激前後で Pyrin インフラマソーム活性化を確認する。方法としては、Pyrin 蛋白、caspase 1 に対するモノクローナル抗体で免疫染色を行う。培養上清中の IL-1 $\beta$  を ELISA 法で測定する。
- 2) 周期熱患者における *MEFV* 遺伝子 E148Q 変異の重要性を検討した。2011 年 3 月から 2020 年 3 月までに紹介された周期熱を有する 211 症例を対象とし、臨床像の解析と次世代シーケンサーによる遺伝子解析を行った。さらに、これまでに発表された E148Q 変異論文の内容を調査した。

## 4. 研究成果

- 1) 本邦初でアミロイドーシス合併は世界初の PAAND 患者の症例を報告した。First case of pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis complicated by amyloidosis. Rheumatology (Oxford). 2020;keaa005. さらに、PAAND 患者から貴重な S242R 変異の iPS 細胞を樹立した。様々な条件を設定して好中球分化を試みた。メ

イギムザ染色によって、核が分葉した好中球を確認できたが、十分量の好中球を確保できなかった。

- 2) 周期熱患者 199 例(12 名の患者は FMF 以外の自己炎症性疾患の診断基準を満たしたため除外)のうち、137 例(68.8%)が臨床的に FMF と診断された。E148Q 変異を含むコンパウンドヘテロ接合グループは、E148Q 変異ヘテロ接合グループよりも、FMF 診断率が有意に高かった ( $P = 0.036$ )。抽出された 333 論文のうち、E148Q 関与に関する論文が 21 論文(肯定的な論文が 12 論文、否定的な論文が 6 論文、エクソン 10 変異と比較して関与が低いと結論した論文が 3 論文)あった。関与に肯定的な論文のうち、E148Q 変異に他の変異が加わることで FMF へ進展する可能性を示唆する論文が 4 論文あった。また、E148Q 変異のある FMF 症例報告が 73 論文、FMF 以外の疾患と E148Q 変異に関する報告が 97 論文あった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Fujimoto Kyoko, Hidaka Yukiko, Koga Takuma, Kaieda Shinjiro, Yamasaki Satoshi, Nakashima Munetoshi, Hoshino Tomoaki, Yamamoto Ken, Nishikomori Ryuta, Ida Hiroaki	4. 巻 31
2. 論文標題 MEFV E148Q variant is more associated with familial Mediterranean fever when combined with other non-exon 10 <i>MEFV</i> variants in Japanese patients with recurrent fever	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1208 ~ 1214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2021.1880534	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 Takuma, Hidaka Yukiko, Iwamoto Kazutsugu, Kumaki-Matsumoto Eri, Harada Yumi, Sugi Suzuna, Hayashi Makiko, Fujimoto Kyoko, Kaieda Shinjiro, Natsuaki Yohei, Mitsuyama Keiichi, Ishimaru Hiroyasu, Iga Natsuko, Fujita Kumi, Morio Tomohiro, Yamasaki Satoshi, Nishikomori Ryuta, Hoshino Tomoaki, Ida Hiroaki	4. 巻 2
2. 論文標題 Pyoderma gangrenosum, acne, and unclassified inflammatory bowel disease syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine: Case Reports and Study Protocols	6. 最初と最後の頁 e0023 ~ e0023
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD9.0000000000000023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamasaki Satoshi, Nakashima Munetoshi, Ida Hiroaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Possible Roles of tRNA Fragments, as New Regulatory ncRNAs, in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9481 ~ 9481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22179481	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Sumida Hayakazu, Migita Kiyoshi, Ida Hiroaki, Asano Yoshihide, Shimizu Jun, Kagami Shinji, Sugaya Makoto, Kadono Takafumi, Sato Shinichi	4. 巻 48
2. 論文標題 Dermatomyositis like eruptions and fasciitis with novel compound heterozygous MEFV mutations: Newly recognized features of a variant of familial Mediterranean fever	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1453 ~ 1456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16031	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 Kiyota Masatomo, Oya Masafumi, Ayano Masahiro, Niuro Hiroaki, Iwasaki Takeshi, Fujiwara Minako, Oda Yoshinao, Fujimoto Kyoko, Ida Hiroaki	4. 巻 59
2. 論文標題 First case of pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis complicated by amyloidosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatology	6. 最初と最後の頁 e41 ~ e43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keaa005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hidaka Yukiko, Fujimoto Kyoko, Matsuo Norikazu, Koga Takuma, Kaieda Shinjiro, Yamasaki Satoshi, Nakashima Munetoshi, Migita Kiyoshi, Nakayama Manabu, Ohara Osamu, Hoshino Tomoaki, Nishikomori Ryuta, Ida Hiroaki	4. 巻 31
2. 論文標題 Clinical phenotypes and genetic analyses for diagnosis of systemic autoinflammatory diseases in adult patients with unexplained fever	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology	6. 最初と最後の頁 704 ~ 709
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2020.1784542	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 Fujimoto Kyoko, Hidaka Yukiko, Koga Takuma, Kaieda Shinjiro, Yamasaki Satoshi, Nakashima Munetoshi, Hoshino Tomoaki, Ida Hiroaki	4. 巻 59
2. 論文標題 Clinical and Genetic Analysis of 22 Japanese Patients with Familial Mediterranean Fever: An Examination of MEFV and 10 Other Genes Related to Autoinflammatory Syndromes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 1373 ~ 1378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.3778-19	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 Shinar Y, Ceccherini I, Rowczenio D, Aksentijevich I, Arostegui J, Ben-Ch&eacutrit E, Boursier G, Gattorno M, Hayrapetyan H, Ida H, Kanazawa N, Lachmann HJ, Mensa-Vilaro A, Nishikomori R, Oberkanins C, Obici L, Ohara O, Ozen S, Sarkisian T, Sheils K, Wolstenholme N, Zonneveld-Huijssoon E, van Gijn ME, Touitou I	4. 巻 66
2. 論文標題 ISSAID/EMQN Best Practice Guidelines for the Genetic Diagnosis of Monogenic Autoinflammatory Diseases in the Next-Generation Sequencing Era	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Chemistry	6. 最初と最後の頁 525 ~ 536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/clinchem/hvaa024	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 該当する

1. 著者名 Shiba Takeshi, Tanaka Takayuki, Ida Hiroaki, Watanabe Misa, Nakaseko Haruna, Osawa Mitsujiro, Shibata Hirofumi, Izawa Kazushi, Yasumi Takahiro, Kawasaki Yuri, Saito Megumu K., Takita Junko, Heike Toshio, Nishikomori Ryuta	4. 巻 144
2. 論文標題 Functional evaluation of the pathological significance of MEFV variants using induced pluripotent stem cell-derived macrophages	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1438 ~ 1441.e12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.07.039	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9件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井田 弘明、藤本 京子、山崎 聡士
2. 発表標題 家族性地中海熱患者におけるE148Q変異の意義について：周期熱患者の遺伝子解析とE148Q変異に関するシステマティック・レビュー
3. 学会等名 第5回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 井田弘明、藤本京子
2. 発表標題 Pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis (PAAND)
3. 学会等名 第4回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古賀 琢眞、日高 由紀子、松本 恵里、藤本 京子、海江田 信二郎、森尾 友宏、山崎 聡士、西小森 隆太、星野 友昭、井田 弘明
2. 発表標題 PAPA症候群の新しい亜型PAB症候群
3. 学会等名 第4回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古賀 琢眞、日高 由紀子、松本 恵里、藤本 京子、海江田 信二郎、森尾 友宏、山崎 聡士、西小森 隆太、星野 友昭、井田 弘明
2. 発表標題 PAPA症候群の新しい亜型PAB症候群
3. 学会等名 第65回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤本京子、日高由紀子、古賀琢眞、海江田信二郎、山崎聡士、中島宗敏、星野友昭、西小森隆太、井田弘明
2. 発表標題 周期熱患者におけるE148Q変異の意義についての検討
3. 学会等名 第65回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤本京子、岩永百合那、古賀琢眞、日高由紀子、海江田信二郎、山崎聡士、星野友昭、井田弘明
2. 発表標題 不明熱患者における家族性地中海熱患者の調査および自己炎症性疾患関連遺伝子の解析
3. 学会等名 第3回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fujimoto K, Hidaka Y, Yoshida Y, Hayashi M, Sugi S, Koga T, Kaieda S, Yamasaki S, Tomoaki H, Ida H
2. 発表標題 Clinical Study of Japanese Patients with Fever of Unknown Origin: Investigation of Mutations in 22 Genes Related to Autoinflammatory Diseases
3. 学会等名 10Th The International Society of Systemic Auto-Inflammatory Diseases (ISSAID) International conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本京子、日高由紀子、古賀琢眞、海江田信二郎、山崎聡士、星野友昭、井田弘明
2. 発表標題 不明熱患者における22自己炎症症候群疾患遺伝子の解析；家族性地中海熱類縁疾患の検討
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤本京子、日高由紀子、吉田裕美、林真樹子、古賀琢眞、海江田信二郎、山崎聡士、星野友昭、井田弘明
2. 発表標題 不明熱患者における22の自己炎症症候群疾患遺伝子の解析
3. 学会等名 第63回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 井田弘明、永井 良三編	4. 発行年 2020年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1283-4
3. 書名 今日の診断指針 ポケット判 第8版	

〔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	海江田 信二郎  (KAIEDA Shinjiro)  (20330798)	久留米大学・医学部・准教授   (37104)	



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	山崎 聡士  (YAMASAKI Satoshi)  (30367388)	久留米大学・その他部局等・准教授    (37104)	

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