

令和 5 年 5 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08226

研究課題名（和文）血中IL-18の異常高値で特徴付けられる疾患群の病態解明と治療法開発

研究課題名（英文）Characterization of inflammatory diseases with chronic excess of serum interleukin-18

研究代表者

和田 泰三（WADA, Taizo）

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：30313646

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）：IL-18は、インフラマゾーム活性化に伴い分泌される炎症性サイトカインである。本研究では、血中IL-18の異常高値や反復性の血球貪食症候群を特徴とする疾患群の同定、病態の解明等を目的とした。家族性地中海熱では、MEFV遺伝子のexon10変異に加えてexon2バリエーションを有する場合、典型的な症状を示し、血中IL-18も有意に高値となることが判明した。小児多系統炎症性症候群では、IL-18の上昇は全身型若年性特発性関節炎に比較すると低いものの、川崎病に比べると有意に高値を示すことが判明した。本研究により、血中IL-18が様々な炎症性疾患において臨床上的重要な指標になることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、さまざまな炎症性疾患において血中IL-18の異常高値が臨床症状とどのように結びついているかが明らかになった。血中IL-18値は、一般血液検査では捉えきれない病態を反映し、血球貪食症候群の発症を予測できる可能性があり、これらの疾患の診療において重要な指標となると考えられる。他のサイトカイン等を組み合わせることで病態評価の質がより向上するものと考えられる。今後、IL-18異常産生の産生源の同定や機序の解明がさらに進むことにより、血中IL-18の異常高値を特徴とする疾患群において、IL-18を標的とした治療が開発されることが期待される。

研究成果の概要（英文）：IL-18 is a proinflammatory cytokine secreted upon inflammasome activation. The aim of this study was to identify a group of diseases characterized by chronic excess of serum IL-18 and predisposition to hemophagocytic syndrome, and to elucidate the pathogenesis of these diseases. We found that familial Mediterranean fever with exon 10 mutation of the MEFV gene plus exon 2 variant exhibited typical symptoms and significantly elevated levels of serum IL-18. In multisystem inflammatory syndrome in children, we found that IL-18 elevations were lower than in systemic juvenile idiopathic arthritis, but significantly higher than in Kawasaki disease. This study demonstrates that serum IL-18 is an important clinical indicator in a variety of inflammatory diseases.

研究分野：医歯薬学

キーワード：IL-18 炎症性疾患 血球貪食症候群 サイトカイン

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

インターロイキン (IL)-18 は、インターフェロン-誘導因子として発見された炎症性サイトカインである。IL-18 は IL-1 ファミリーに属し、インフラマゾームの活性化に伴いカスパーゼ 1 により前駆体が切断され成熟型として分泌される。その生理活性は、生理的抑制因子である IL-18 結合蛋白 (IL-18BP) とのバランスで決まる。血中 IL-18 は、血球貪食症候群など様々な炎症性疾患で上昇する。特に全身型若年性特発性関節炎 (sJIA) やそ成人発症スティル病 (AOOS) では、血中 IL-18 が  $10^4$  pg/mL を超える著しい高値を示し、マクロファージ活性化症候群を反復することが以前より知られている。sJIA/AOSD は多因子疾患と考えられ、特定の原因遺伝子の異常は明らかにされていない。

我々は以前に、単一遺伝子疾患である XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) 欠損症が、sJIA/AOSD と同様に血中 IL-18 の持続的な異常高値を示すことを報告した。XIAP 欠損症は、XIAP 蛋白の機能喪失による原発性免疫不全症で、血球貪食症候群を反復することが特徴である。sJIA/AOSD と同様に、血中 IL-18 高値が反復性の血球貪食症候群に関連していると考えられている。その後、NLRC4 (NLR family CARD domain-containing protein 4) 異常症でも血中 IL-18 の異常高値が示されている。sJIA/AOSD 自験例では、XIAP 遺伝子や NLRC4 遺伝子に病的変異は認められなかったが、これらの疾患群には、IL-18 が過剰産生される共通の仕組みがあると考えられる。

### 2. 研究の目的

本研究では、血中 IL-18 の異常高値や反復性の血球貪食症候群を特徴とする疾患群の同定、それら疾患の病態の解明、IL-18 を標的とした新規治療法の開発を目的とする。これまで報告されている sJIA/AOSD、XIAP 欠損症や NLRC4 異常症に加えて、血中 IL-18 異常高値を示す疾患は存在するか否かを広範に検討する。血中 IL-18 高値を示す疾患において、IL-18 異常産生の産生源の同定や機序の解明、病態解析を行い、血中 IL-18 の異常高値が、血球貪食症候群などの臨床症状とどのように関連しているかを検討する。最終的に IL-18 を標的とする治療の可能性を検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 血中 IL-18 の異常高値を特徴とする疾患群の同定

全国の施設より依頼される様々な炎症性疾患において、サイトカインプロファイル解析を行い、血中 IL-18 の異常高値を認める症例のスクリーニングを行う。

#### (2) サイトカインプロファイル解析

IL-18 の他、IL-6、ネオプテリン、可溶性腫瘍壊死因子レセプター (sTNF-R) I、sTNF-R II の測定を ELISA 法にて行う。必要に応じて、血中のサイトカインやケモカインの網羅的な測定を行う。

#### (3) IL-18 異常産生の機序の検討

血中 IL-18 高値を示す疾患において、IL-18 の異常産生が患者単球/マクロファージを中心に行われているか否かを検討する。患者末梢血単核球もしくは抗 CD14 磁気ビーズを用いて単離した単球をインフラマゾーム活性化剤の組合せで刺激し、上清中のサイトカインを ELISA 法で測定、IL-18 や IL-1 の産生能を検討する。必要に応じ、顆粒球単球コロニー刺激因子を用いて単球より分化させたマクロファージで、同様の刺激実験を行う。

#### (4) IL-18 異常高値が血球貪食症候群を引き起こす機序の検討

全血をリコンビナント IL-18 で刺激し、ナチュラルキラー (NK) 細胞表面の活性化マーカー CD69 の発現等を検討する。NK 細胞の機能異常がサイトカイン異常産生につながっているかを検討する。

#### (5) フリー IL-18 の検討

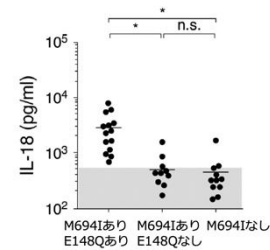
IL-18 の生理活性は、生理的抑制因子である IL-18BP とのバランスで決まり、IL-18BP と結合していないフリー IL-18 が活性をもつ。血中 IL-18 と IL-18BP を同時に ELISA 法にて測定するこ

とで、フリーIL-18の定量を試みる。

#### 4. 研究成果

##### (1) 研究成果1：家族性地中海熱 (FMF) における血中 IL-18 高値

FMFは、発熱、漿膜炎に伴う腹痛や胸痛などの症状を周期的に繰り返すことを特徴とする自己炎症性疾患である。MEFV遺伝子異常により、その遺伝子産物pyrinの機能異常が引き起こされ、炎症制御機構が破綻し発症すると考えられている。FMFは常染色体潜性遺伝形式をとり、典型例ではMEFV遺伝子exon10に変異を認める。我が国ではexon10ヘテロ変異とexon2に存在するE148Qバリエーションとの組み合わせで発症するが多い。しかし、E148Q自体は日本人の22.4%に認められる多型と考えられている。E148Qがどのように病態に影響しているかを解析したところ、exon10ヘテロ変異のみでは、FMFを発症する場合は少なく血中IL-18も低値で、exon10ヘテロ変異にE148Qバリエーションが加わった場合にFMFを発症することが多く、血中IL-18も高値となることが明らかにされた。



##### (2) 研究成果2：リウマチ性疾患とマクロファージ活性化症候群

背景の異なるリウマチ性疾患におけるマクロファージ活性化症候群発症とIL-18などのサイトカインの関係を解析した。sJIA、全身性エリテマトーデス、若年性皮膚筋炎では、マクロファージ活性化症候群を併発すると、血中IL-18のほか、ネオプテリン、sTNFR-IIが有意に高値を示した。これらの過剰産生がマクロファージ活性化症候群の発症と密接に結びついていることが明らかにされた。

また、sJIAの末梢血をIL-18で刺激したところ、正常対照ではNK細胞表面の活性化マーカーCD69が発現し、濃度依存性にNK細胞が活性化された。一方、sJIA急性期ではIL-18への反応は著しく減少しており、NK細胞機能障害が存在する可能性が示唆された。

##### (3) 研究成果3：XIAP欠損症における血中IL-18高値

XIAP欠損症では血中IL-18が持続高値となることが知られている。もしIL-18BPに結合していないフリーIL-18も高値であれば、IL-18BPを治療薬として用いることができる可能性がある。XIAP欠損症の活動期の血清を用いてフリーIL-18の定量を開始している。一方、IL-18異常産生の機序の検討するために、XIAP欠損症の末梢血単核球をインフラマゾーム活性化剤で刺激し、IL-18産生能を解析した。3名の患者で検討したところ、うち1名で健常人に比べIL-18産生能が亢進していた。しかし他の2名では健常人と有意差はなく、今後、症例数を増やして検討する必要があると考えられた。

##### (4) 研究成果4：小児多系統炎症性症候群 (MIS-C) における血中IL-18解析

最近、川崎病の病態に類似するとされるMIS-Cが注目されている。MIS-Cは新型コロナウイルス感染症に続発して強い炎症が多臓器に引き起こされる疾患である。本研究で、sJIA、川崎病、MIS-Cの血中サイトカインプロファイル、特にIL-18について検討した結果、MIS-CではsJIAに比較すると血中IL-18は低値なものの、川崎病に比べると有意に高値を示すことが明らかになった。さらにネオプテリン、IL-18、sTNF-RI、sTNF-RIIなどを組み合わせることで、これらの疾患の鑑別に役立つことが判明した。

## 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 2件）

1. 著者名 Miyazawa H, Wada T.	4. 巻 13
2. 論文標題 Immune-mediated inflammatory diseases with chronic excess of serum interleukin-18	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Immunol	6. 最初と最後の頁 930141 ~ 930141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.930141	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 Miyazawa H, Wada T.	4. 巻 12
2. 論文標題 Reversion Mosaicism in Primary Immunodeficiency Diseases.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front Immunol	6. 最初と最後の頁 783022 ~ 783022
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.783022	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 Miyashita K, Matsuda Y, Okajima M, Toma T, Yachie A, Wada T.	4. 巻 64
2. 論文標題 Role of E148Q in familial Mediterranean fever with an exon 10 mutation in MEFV.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatr Int	6. 最初と最後の頁 214 ~ 219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.14696	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 Mizuta M, Shimizu M, Irabu H, Usami M, Inoue N, Nakagishi Y, Wada T, Yachie A.	4. 巻 60
2. 論文標題 Comparison of serum cytokine profiles in macrophage activation syndrome complicating different background rheumatic diseases in children	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Rheumatol	6. 最初と最後の頁 231 ~ 238
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/rheumatology/keaa299	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 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 和田泰三
2. 発表標題 サイトカインからみた川崎病と小児多系統炎症性症候群の特徴
3. 学会等名 第42回日本川崎病学会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 和田泰三
2. 発表標題 先天性免疫異常症:病態解析からみえてくる多様性
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（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮下健悟、岡島道子、東馬智子、和田泰三
2. 発表標題 家族性地中海熱（FMF）におけるE148QバリエントはM694Iと共存した場合にFMF発症に寄与する
3. 学会等名 第48回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2020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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------