

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：遺伝子変異に基づく FMF インフラマソーム病態解明と炎症制御に向けたトランスレーショナル研究

2. 研究開発代表者：川上 純（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科展開医療科学講座・教授）

3. 研究開発の成果

### 【作成上の留意事項】

本報告書は、提出締切り時点（事業年度終了6 1日後）の情報として毎年度当機構ホームページ上に公開されます。知的財産関連の情報（\*）、個人情報等公開に適さない内容が含まれていないかご注意願います。

（1）研究者等は当該報告書を提出した時点で、公表について承諾したものとします。

（2）当該年度の研究班全体の成果が明らかになるように **1600字以内（図表絵等を含めない）** で簡潔に記載してください。研究開発期間最終年度の研究班の研究開発代表者は、初年度から最終年度までの全研究開発期間における活動総括概要を作成してください。

家族性地中海熱（Familial Mediterranean fever : FMF）は本邦においても認められ、平成26～28年度の3年間で、日本人FMFの疾患遺伝子の同定とその遺伝子情報に基づき再構成されたインフラマソームを用いてFMFの新たな分子標的治療の確立を目標としている。平成27年度は、

1. FMF発作期に特異的に発現変動する血清バイオマーカーの抽出
2. *MEFV*遺伝子の全ゲノム解析（次世代シーケンサー）
3. 試験管内インフラマソーム再構築の3項目について、特筆すべき成果を得た。

1. に関しては、FMF 発作期に特異的に発現変動する血清バイオマーカーを抽出した。すなわち、FMF発作期と健常人の鑑別にはIL-6、IL-18、IL-17の組み合わせが、また、FMF発作期と寛解期の鑑別にはIL-6、G-CSF、IL-10、IL-12の組み合わせが有用であることを明らかとして、知財を確保した（特願2015-185703）。これら発作期と寛解期の鑑別に有用なIL-6、G-CSF、IL-10、IL-12に関しては、時系列の解析が可能であった症例群において、有意な発現変動が認められ、その有用性が評価された。また、Exon10変異を認める症例は、寛解期においてもIL-18が高値であり、これら症例のsubclinical inflammationに関連する可能性がある。またこのバイオマーカーアッセイでは評価できなかった活性型IL-1 $\beta$ についても、活性型 IL-1 $\beta$  に対するポリクローナル抗体を用いた系で検出可能であることを明らかとした。今後、これに定量性を付加し、また、新たなアレイデータを取り入れ、より精度が高いバイオマーカーセットの開発を目指す。また、得られたサイトカインデータをもとに、血清マイクロRNAアレイとヒトマクロファージ系細胞株を用いたin vitro解析を展開中で、3. に述べる試験管内インフラマソーム再構築系で得られたデータとの整合性を確認する。

2. に関しては、まずは解析対象範囲をZNF200遺伝子とLINC00921遺伝子のH3K27Ac部位まで含めた合計約30 kb のゲノム領域について、次世代シーケンサーを用いた変異解析を行った。その結果、c.2082G>A (M694I) in exon10（ゲノムデータhg19表記：chr16:3293405C>T）が最も特異的なvariantであることが確認された。Exon10変異を認める症例は、上述の1. に述べたように、寛解期においてもIL-18が高値との興味深い成果を得ており、生物統計学的手法を駆使し、遺伝子診断に加え、FMFのGenotype-Phenotype Interactionの解明を目指す。Exon 10変異がないFMF 48例を対象にexome解析も実施中で、いくつかの候補について、精査中である。*MEFV*遺伝子以外にも、FMFの対照疾患（家族性ペーチェット病など）のexome解析および機能解析において、興味深い結果が得られている。

3. に関しては、FMFの発作のトリガーと想定されるウィルスDNAを認識するAIM2インフラマソームの試験管内再構築システムが完成し、これによりFMFのトリガーの発見と低分子医薬・抗体医薬の探索が可能となった。低分子医薬のスクリーニングに関して9600種類の化合物のスクリーニングを終えている。

以上より、研究は順調に経過していると考えられ、次年度は、当初に挙げた研究開発項目の完成を目指す。

#### 4. その他

##### 【作成上の留意事項】

- (1) 日本工業規格A列4番（A4）の用紙を用い、全文を1枚以内でまとめてください。
- (2) 文字の大きさは、10～12ポイント程度とします。
- (3) 当機構に提出の際はPDFに変換したファイルを送付してください。

本研究計画と関連する出願済みの特許

出願番号：2015-185703

出願人（特許権者）：長崎大学・独立行政法人国立病院機構

発明の名称：家族性地中海熱のバイオマーカー

出願日：2015年9月18日