

200400802A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

分科会長 宮 脇 利 男

平成17年3月

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

目 次

I. 班員名簿	1
II. 総括研究報告	3
宮脇利男（富山医科薬科大学小児科）	
III. 分担研究報告	
1. 原発性免疫不全症候群に関する症例	11
岩田 力（東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻小児医学講座発達発育学分野）	
2. 高 IgM 症候群75例の臨床的検討	17
今井 耕輔、森西 洋一、堀内 勝行、野々山恵章（防衛医科大学校小児科）	
3. 重症度の異なる X 連鎖高 IgM 症候群CD40リガンドの機能解析	21
小林 法元、安井 耕三（信州大学医学部小児医学講座） 野々山恵章（防衛医科大学校小児科） 二谷 武、金兼 弘和、宮脇 利男（富山医科薬科大学小児科） 上松 一永（信州大学医学研究科移植感染免疫学講座）	
4. 簡易診断と遺伝子解析に基づくX連鎖無ガンマグロブリン血症の同定：7年間のまとめ	25
金兼 弘和、二谷 武、宮脇 利男（富山医科薬科大学医学部小児科）	
5. IgGサブクラス測定の臨床的必要性の検討	29
金兼 弘和、種市 尋宙、二谷 武、宮脇 利男（富山医科薬科大学医学部小児科）	
6. CD3 delta欠損による重症複合免疫不全症	33
高田 英俊、野村 明彦、原 寿郎（九州大学大学院医学研究院成長発達医学）	
7. 非血縁臍帯血造血幹細胞移植を行ったJanus kinase 3（JAK3）異常を呈する重症複合免疫不全症の一例	37
蒲池 吉朗、小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学） 柘植 郁哉（藤田保健衛生大学小児科）	
8. 骨髄非破壊的臍帯血移植を施行したX-SCIDの免疫機能再建過程	43
波多野典一、戸板 成昭、小林 良二、川村 信明、岡野 素彦、小林 邦彦、有賀 正 （北海道大学大学院医学研究科生殖発達医学講座小児科学分野）	
9. 重症複合免疫不全症における血液幹細胞移植後のT細胞再構築；TCR構造多様性を指標とした定量的解析	47
谷内江昭宏（金沢大学医学部保健学科） 東馬 智子、笠原 善仁、小泉 晶一（金沢大学大学院医学系研究科小児科学）	

10. アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症における血液幹細胞を標的とした遺伝子治療臨床研究	53
大津 真、小野寺雅史 (筑波大学大学院・人間総合科学研究科)	
前山 義博、中島 督、貴田みゆき (北海道大学大学院・医学研究科・遺伝子治療講座)	
波多野典一、川村 信明、岡野 素彦、有賀 正 (北海道大学大学院・医学研究科・小児科学講座)	
立澤 幸 (国立成育医療センター)	
Fabio Candotti (National Institute of Health)	
Michael Hershfield (Duke University)	
崎山 幸雄 (手稲溪仁会病院小児センター)	
11. 先天性免疫不全症に関する遺伝子治療の基礎的研究	57
右田 真、早川 潤、伊藤 保彦、福永 慶隆 (日本医科大学小児科学)	
堀 秀樹、田辺 浩子、島田 隆 (日本医科大学第二生化学)	
12. PI3K欠損B細胞におけるシグナル伝達経路の解析	61
松田 達志、小安 重夫 (慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学教室、科学技術振興機構・CREST)	
13. ヒトの λ 5欠損症で高頻度に出現する軽鎖非依存性異常 μ H鎖の構造機能解析	65
鳥山 一、峯岸 克行 (東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学)	
14. プロテオーム解析による免疫不全症の原因分子探索の試みに関する研究	69
河野 雅之、齋藤 隆 (理化学研究所・免疫アレルギーセンター・免疫シグナル)	
木村 弥生、小原 収 (理化学研究所・免疫アレルギーセンター・免疫ゲノミクス)	
金兼 弘和、宮脇 利男 (富山医科薬科大学・小児科学)	
15. 膠原病様症状を伴った外胚葉形成不全免疫不全症症例の解析	73
布井 博幸、水上 智之 (宮崎大学医学部小児科)	
16. 日本人Bloom 症候群における common なBLM遺伝子変異の同定	77
近藤 直実、金子 英雄、深尾 敏幸、川本 典生 (岐阜大学大学院医学研究科小児病態学)	
17. 転写開始コドンの第二変異によりN末を欠失したWASPを発現するようになった Wiskott-Aldrich症候群患者の解析	81
Du Wei、久間木 悟、笹原 洋二、内山 徹、土屋 滋 (東北大学加齢医学研究所発達病態研究分野)	
18. Chédiak-Higashi 症候群発症メカニズムに関する検討	85
葛西 宏威、森本美智子、伊藤 正彦 (山梨大学大学院医学工学総合研究部微生物学)	
田辺 文憲 (山梨大学大学院医学工学総合研究部人間科学・基礎看護学)	
19. WHIM症候群におけるCXCR 4 遺伝子変異に関する研究	89
小林陽之助、谷内昇一郎、藤井 吉充、蓮井 正史、辻 章志、畑埜 泰子、伊藤 太一 (関西医科大学小児科)	
榎田 緑 (関西医科大学臨床検査学)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧	95

I 班 員 名 簿

原發性免疫不全症候群調査研究班
班 員 名 簿

	氏 名	施 設	職 名
主任研究者	宮 脇 利 男	富山医科薬科大学医学部小児科学	教 授
分担研究者	有 賀 正	北海道大学大学院医学研究科生殖発達医学講座小児科学分野	教 授
	土 屋 滋	東北大学加齢医学研究所発達病態研究分野	〃
	野々山 恵 章	防衛医科大学校医学研究科小児科学	〃
	上 松 一 永	信州大学大学院医学研究科臓器移植細胞工学医科学系専攻 移植免疫感染症学	助 教 授
	近 藤 直 実	岐阜大学大学院医学研究科小児病態学分野	教 授
	布 井 博 幸	宮崎大学医学部小児科学	〃
	原 寿 郎	九州大学大学院医学研究院成長発達学	〃
	小 林 陽之助	関西医科大学医学部小児科学	〃
	岩 田 力	東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻 小児医学講座発達発育学分野	助 教 授
	小 安 重 夫	慶應義塾大学医学部微生物学・免疫学科学技術振興機構・ CREST	教 授
	齋 藤 隆	理化学研究所横浜研究所・免疫アレルギー科学総合センター ・免疫シグナル研究グループ	グ ル ー プ ディレクター
烏 山 一	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究所 免疫アレルギー学分野	教 授	
研究協力者	崎 山 幸 雄	医療法人溪仁会 手稲溪仁会病院小児センター	センター長
	谷内江 昭 宏	金沢大学医学部保健学科医学検査学	教 授
	福 永 慶 隆	日本医科大学小児科学	教 授
	伊 藤 正 彦	山梨大学大学院医学工学総合研究部微生物学	教 授
	蒲 池 吉 朗	名古屋大学大学院医学系研究科小児科学	助 手

Ⅱ 年次総括報告

総括研究報告

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

主任研究者 宮 脇 利 男

（富山医科薬科大学医学部小児科学教授）

研究要旨

本調査研究班では、原発性免疫不全症候群の疫学調査、病因や病態の解明、診断法や治療法の開発、患者QOLの改善を目的に、重点目標として、1) 疫学調査研究、2) 簡易診断法の開発と遺伝子解析、3) 責任遺伝子、発症機構、病態の解明、4) 治療法の改良と遺伝子治療研究、5) ホームページの充実と患者QOLの改善を掲げている。疫学調査研究では、全国登録の推進に努め、新規に18例（男12例、女6例）が登録され、登録総数は1,250名となった。簡易診断法の開発と遺伝子解析では、責任遺伝子の明らかとなっている疾患について遺伝子解析を進め、新たに45家系で遺伝子診断を行ない、新規責任遺伝子に関して、SCIDにおける *CD3delata* 遺伝子変異日本の症例で初めて同定した。責任遺伝子、発症機構、病態の解明では、各種疾患の基礎的・臨床的解析を行った。治療法の改良と遺伝子治療研究に関して、ベクターによる副反応の軽減のために新たなベクター開発の基礎的研究を行い、臨床応用としてCD34陽性血液幹細胞を標的とした遺伝子治療をアデノシンデアミナーゼ欠損症2例については、順調に経過している。ホームページの充実と患者QOLの改善については、ホームページを介した患者・家族からの問合せに答え、遺伝子解析や遺伝カウンセリングに誠意をもって対応した。

分担研究者

有賀 正・北海道大学大学院医学研究科小児発達学教授
土屋 滋・東北大学加齢医学研究所発達病態研究分野教授
野々山恵章・防衛医科大学校医学研究科小児科学教授
上松 一永・信州大学大学院医学研究科臓器移植細胞工医学部医科学系専攻移植免疫感染症学助教授
近藤 直実・岐阜大学大学院医学研究科小児病態学分野教授
布井 博幸・宮崎大学医学部小児科学教授
原 寿郎・九州大学大学院医学研究院成長発達医学教授
小林陽之助・関西医科大学医学部小児科学教授
岩田 力・東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻小児医学講座発達発育学分野助教授
小安 重夫・慶応大学医学部微生物学・免疫学教授
斉藤 隆・理化学研究所横浜研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター免疫シグナル研究グループディレクター
烏山 一・東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科免疫アレルギー学分野教授

他研究協力者5名

A. 研究の目的

本調査研究班の目的は、免疫系の先天性欠陥に起因し、有効な治療が施されないと致死となるか後遺症を残す恐れのある多岐の疾患を含む原発性免疫不全症候群について、疫学調査、病因や病態の解明、診断法や治療法の開発、患者のQOLの改善を図ることにある。近年の基礎免疫学の進歩により一部の疾患では責任遺伝子が同定され確定診断が可能となっているが、まだ責任遺伝子が不明のものも多い。有効な治療法がなく、根治的治療として遺伝子治療に対する期待も大きい。また、基礎的、臨床的研究の余地がある。このような背景のもとに、平成14年度より、本症候群に含まれる多種の疾患を総合的かつ包括的に調査・研究すべく、調査・研究の重点目標として、1) 疫学調査研究、2) 簡易診断法の開発と遺伝子解析、3) 責任遺伝子、発症機構、病態の解明、4)

治療法の改良と遺伝子治療研究、5) ホームページの充実と患者QOLの改善を掲げ、調査・研究を推進している。

B. 研究方法

原発性免疫不全症候群に含まれる各種の疾患を対象に、臨床調査個人表を活用した新規登録および疫学調査、簡易診断と遺伝子解析を併用した遺伝子診断、臨床的観察や基礎的研究に基づいた病態解析、責任遺伝子の同定のための新たな手法の開発、患者のQOLの向上につながる治療法の改良、遺伝子治療の臨床的基礎的研究の推進などを分担して施行し、これらを総合的に解析・評価することにより、原発性免疫不全症候群の新たな概念、病態、診断や治療法の開発を目指した。

C. 研究結果と考察

1. 疫学調査研究

原発性免疫不全症候群の登録は、各学会や論文などの発表症例をサーチし、主治医に登録依頼するという従来の方法で行なった。本年度は合計で18例(男性12例、女性6例)の登録を得た。その内訳は重症複合免疫不全症(SCID)3例(γ c鎖欠損症2例、T細胞受容体 $\alpha\beta$ 鎖欠損症男児1例)、X連鎖無ガンマグロブリン血症(XLA)3例、分類不能型免疫不全症(CVID)の女児1例、Wiskott-Aldrich症候群(WAS)3例、DiGeorge症候群1例(女児)、ataxia telangiectasia 1例(男児)、高IgE症候群2例(女児)、X連鎖慢性肉芽腫症(XCGD)2例(男児)、好中球減少症1例(女児)、Good症候群1例(65歳女性)である。このうちGood症候群の例は、研究班のホームページをみた患者家族からの問い合わせにより主治医の了承を得て登録された。本登録事業開始以来の延べ登録数は男性907例、女性343例、合計1250例である。また、現行の登録票(C票)を用いた1993年以降の合計は男性364例、女性111例、合計475例である。これらの数字は、近年登録が進んでいるヨーロッパの国々特に北欧、イタリアなどの各国における総数に比較して少なく、従来の手法による登録には限界が

ある。より正確な登録を行なうためには、特定疾患患者調査個人票の参照、小児慢性疾患登録例の参照が必要であり、いくつかの疾患については、その疾患を集約している研究者に依頼し、独自に把握している症例の確認を行うなどの作業が必要となる。

2. 簡易診断法の開発と遺伝子解析

臨床の現場で実施可能な簡易診断法として、責任遺伝子産物に対する単クローン抗体を用いたフローサイトメトリーによる患者・保因者診断は、比較的頻度の高いX連鎖免疫不全症のXLA、X連鎖SCID(XSCID)、XCGD、WAS、X連鎖リンパ増殖性疾患(XLP)について本研究班開発済みで、現在、遺伝子診断の前段階のスクリーニングとして積極的に利用している。本年度は、新たな疾患についての簡易診断法の開発はなかったが、新たに責任遺伝子が判明しているIPEX症候群の簡易診断につながる単クローン抗体の作成を行っている。

確定診断としての遺伝子解析については、臨床からの要請に積極的に応じて、班員相互が分担し実施し、新たに45家系で遺伝子診断を行なった。免疫の分子生物学的理解が広がるにつれ、新たな免疫不全の責任遺伝子が次々と同定されている。CD3delta欠損によるSCID(1例)、Artemis遺伝子変異によるSCID(2例)、NEMO欠損症(1例)を、日本の症例で確認した。

3. 責任遺伝子、発症機構、病態の解明

1) 無 γ グロブリン血症

無 γ グロブリン血症を来す疾患で最も多いのがXLAである。1998年にフローサイトメトリーによる簡易診断法を開発して以来、BTK遺伝子解析を併用してXLAと診断された例は2004年までに135例に達している。それらの臨床的解析から、臨床的発症年齢は1歳未満が最多であったが、乳児期以降に発症したと思われる例も相当数あり、思春期、成人期以降の発症例も少なからず存在することが明らかとなった。他方、低ガンマグロブリン血症に気づかれた年齢は乳児期以降が多く、発症から約2年を要しているものがある。最近では、低ガンマグロブリン血症に気づかれてから1年以

内にXLAと確定診断される症例が増加しているものの、発症から確定診断に10数年近くかかっている症例が今なおみられる。低ガンマグロブリン血症でB細胞比率が著減している男児例では、XLAを念頭に検索することが望まれる。

B細胞を欠損する無 γ グロブリン血症をもたらす責任遺伝子としてプレB細胞レセプターの構成成分をコードする5種類の遺伝子が同定されている。その一つに代替軽鎖の λ 5欠損症があり、責任遺伝子としてプレB細胞レセプターの構成成分をコードする5種類の遺伝子が同定されている。その一つに代替軽鎖の λ 5欠損症があり、本症患者骨髄プロB細胞の解析から、代替軽鎖・免疫グロブリン軽鎖のいずれとの会合も必要とせずに、細胞表面に単独で発現する異常な μ H鎖が存在することを見出している。 λ 5遺伝子を欠損するマウスの観察から、軽鎖非依存性 μ H鎖の発現は、プロB細胞からプレB細胞への分化を促進することが分かった。また、免疫グロブリン可変部にVH3-23を有し、CDR3領域に4個の連続した塩基性アミノ酸(ArgあるいはLys)があれば軽鎖非依存性 μ H鎖となる。他方、VH3-23分節を他のVH分節に変えると、軽鎖非依存性は減少するが、その程度は、各々のVH分節により様々である。これらのことより、免疫グロブリン可変部のCDR3領域の陽性荷電アミノ酸の発現を制御することは、免疫グロブリン μ H鎖の品質管理と正常なB細胞分化に重要であることが明らかとなった。

B細胞欠損を伴う無ガンマグロブリン血症を来す可能性のある新規の責任遺伝子を同定する意味で、動物モデルの解析は有用である。すでに、PI3Kの調節サブユニットであるp85 α を欠損したマウスにおいて、末梢におけるB細胞の割合が著減することを明らかにしている。p85 α 欠損のマウスのB細胞においては、NF- κ B経路の重要なコンポーネントであるc-Relの発現が著しく低下しており、さらにRelAの発現低下も観察された。p85 α 欠損B細胞におけるc-Rel遺伝子の発現レベルは野生型マウス由来B細胞と同程度であり、PI3K経路の活性がc-Relタンパク質の細胞内での安定性に寄与している可能性が強く示唆された。

ヒトのp85 α 遺伝子変異は未だ見つかっていないが、非XLA症例の解析から同定されることが期待される。

2) IgG サブクラス欠損症

易感染性を引き起こす疾患の一つとして、IgGサブクラス欠損症は臨床の現場で問題となる。しかし、IgGサブクラス測定が健康保険適応されていないこともあり、その実態は明らかでない。そこで、IgGサブクラス測定の臨床的必要性を知るために全国アンケート調査を行った。IgGサブクラス測定を行ったことがある施設は49.8%であり、将来測定するかもしれないと考えている施設を加えると、全体の61.0%であった。対象疾患は反復気道感染症が最も多かったが、次いで重症細菌感染症、先天性免疫不全症、低ガンマグロブリン血症であった。測定の結果、IgGサブクラス欠損症が221例で診断されていた。多くの施設で易感染性を有する小児の診断のために、個人あるいは病院負担でIgGサブクラスの測定を行っていることが明らかとなった。95.2%の施設でIgGサブクラス測定の健康保険適応を望んでいた。IgGサブクラス欠損症の診断にあたってのIgGサブクラス測定の臨床的ニーズは高く、今後、健康保険適応を含めた本症の衆知が求められる。

3) 高IgM症候群

高IgM症候群(HIGM)は、免疫グロブリンのクラススイッチの障害により、IgMは正常ないし高値をとるが、血清IgG、IgAは低値をとる原発性免疫不全症である。現在まで、責任遺伝子として、*CD40 ligand*, *CD40*, *AID*, *NEMO*に加え、昨年新たに同定した*UNG*が知られている。国内で集積された75例のHIGM患者を臨床遺伝学的に解析した。内訳として、*CD40 ligand*遺伝子変異によるもの39例、*AID*遺伝子変異によるもの15例、*UNG*遺伝子変異によるもの1例であった。原因不明のものが20例あり、DNA修復機構の異常の観点から原因遺伝子を同定すべく検討を進める予定である。*CD40 ligand*遺伝子異常では、T細胞機能不全を伴うことより、予後不良が懸念され造血幹細胞移植が必要である。AID異常

では、B細胞のクラススイッチと体細胞突然変異の異常があり、臨床的には低 γ グロブリン血症の症状が主体であることとガンマグロブリン定期補充により生命予後は良好である事が示された。しかし、診断が遅れると慢性肺疾患に陥る事が明らかにになった。

CD40 リガンド異常による X連鎖性 HIM (XHIM) は比較的頻度が高いものの、遺伝子変異と臨床的重症度との相関は明らかでない。臨床的重症度の違いを明らかにするために、種々の XHIM患者におけるCD40リガンド機能を解析した。対象患者は、移植を行った重症1例、免疫グロブリン補充療法のみで経過をみている軽症1例および無治療1例。方法は、変異CD40リガンドを発現した transfectants を作成し検討した。全て、ウェスタンブロッティングでは、CD40リガンドは正常なサイズを示した。いずれの変異CD40L-transfectants も、B細胞上のCD86の発現を増強せず、B細胞の増殖および免疫グロブリン産生に対する作用も認めなかった。このことから、患者間の重症度の違いは、B細胞に対する作用の差でないことが示唆された。樹状細胞に対する作用では、IL-6産生に差異を認めなかった。今後、樹状細胞におけるIL-12などの産生を検討していく必要がある。

4) Wiskott-Aldrich 症候群

WASは血小板減少、湿疹、易感染を3主徴とするX連鎖の免疫不全症で、症例も多い。責任遺伝子WASPの同定後、簡易診断の導入もあり、WASP遺伝子による臨床的多様性が観察されている。WASP遺伝子から翻訳されるWASPタンパクは細胞骨格系と免疫系で重要な役割を果たすことがわかり、今まで多くの研究が行われてきているが、WASの発症機構や分子病態の理解はまだ十分ではない。一方、WIP (WASP-interacting protein) はWASP WH1 ドメインと結合し、常染色体上にコードされ、WASP活性化を負に制御する分子として知られている。そこで、非典型的WAS患者における変異WASPの機能、とりわけWIPとの結合能から、解析を行い、分子病態の理解を深め、将来の治療に結びつ

けることを目的として検討を行った。症例は、第二変異がWASP翻訳開始点に存在するため、第一変異の下流に位置する2番目のATGから分子量の軽い“N末を一部欠失したWASP”が翻訳されるWAS患者を同定し、この変異WASPがWIPと結合できることを証明した。この患者ではもともとWASP発現が認められなかったことから、変異WASPを発現したT細胞とNK細胞の前駆細胞が増殖優位性を獲得し、細胞集団の一部を占めるようになったものと推測された。以上より、WASPはN末の一部を欠失してもWIPと結合でき、増殖シグナルを伝達できるものと考えられた。

5) 重症複合免疫不全症

近年、重症複合免疫不全症 (SCID) の原因として新たにCD3 delta 欠損症が報告された。本邦におけるCD3delta 遺伝子変異によるSCIDの存在を確認するために、SCIDの姉弟例に関して、CD3delta 遺伝子異常の有無について患者末梢血を用いて検討した。患者末梢血リンパ球を解析したところ、いずれの患者においてもT細胞の欠損を認めたが、B細胞やNK細胞は正常に認められた (T-B+NK+ SCID)。CD3 delta 遺伝子を解析したところ、intron 2に homozygous な遺伝子変異を認め、その結果、膜貫通領域、一部の細胞外領域と細胞内領域に相当する exon 3が splice out された mRNA のみが発現し、正常な mRNA は発現していなかった。これらの結果より、この姉弟は CD3delta 欠損症であると診断した。両親には同部位の heterozygous な遺伝子異常を認めた。

6) Chédiak-Higashi 症候群

Chédiak-Higashi 症候群 (CHS) は白子症を伴う原発性免疫不全症であり、好中球やマクロファージの殺菌能低下とNK活性の低下を特徴とする。責任遺伝子であるCHS1のcDNAは全長13kbと長大で、その詳細な機能についてはまだ明らかではない。これまでにCHS患者2例について患者由来の細胞株よりRT-PCRによりCHS1のcDNA断片を増幅し、増幅された断片をTAクローニングした後、全長の塩基配列を決定した。本年度は、新たに得た4症例について、患者末梢血より

mRNA を抽出し、*CHS1* 全長の塩基配列を決定し、合わせて機能解析も行った。変異遺伝子は、*beige* 由来線維芽細胞中では、PKC局在に異常が見られ刺激非依存的なPKC活性の低下が見られた。PKC分解阻害剤の経口投与によって Con A cap など細胞レベルの表現型の回復が見られた。遺伝子変異については、3 検体について cDNA 7100bp までの領域の配列を明らかにした。全長を決定した 1 検体については 3830 番目の T の一塩基欠損が見られ、1214 番目の Leu 以降が欠損するという欠損変異であることが明らかとなった。その他、10箇所のアミノ酸置換変異が検出された。

7) Bloom 症候群

Bloom 症候群 (BS) は小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全さらには高率に癌腫を合併する常染色体劣性の遺伝性疾患である。病因遺伝子 *BLM* は helicase 活性を有し、DNA の複製・修復に関与すると考えられている。BS の診断は sister chromatid exchange の増加が参考になるが、他の染色体脆弱症候群との境界例も存在し診断に苦慮する場合も少なくない。そこで、本邦における BS の *BLM* 遺伝子変異について解析した。BS の 5 症例を対象とした。4 名に悪性リンパ腫の合併をみた。3 症例が 631delCAA の homozygous であった。1 症例が 631delCAA と 1610insA の compound heterozygous、1 症例が 631delCAA と 735delCAA の compound heterozygous であった。631delCAA を簡便に検出する方法で日本人の健常人 200 allele について検討したが、631delCAA は存在しなかった。検討した BS 症例 10 allele のうち、8 allele が 631delCAA であり、日本人に比較的共通した変異であると考えられた。

8) WHIM 症候群

WHIM (wart, hypogammaglobulinemia, immunodeficiency, myelokathexis) 症候群は、疣贅 (いぼ)、低ガンマグロブリン血症、免疫不全、好中球の特異な形態異常を伴う好中球減少を特徴とする免疫不全症である。近年、WHIM 症候群の責任遺伝子がケモカインレセプターの一つである *CXCR4* であることが判明し、本邦にあっては遺伝子解析より 2 例が確認されている。CX

CR4 はストローマ細胞由来因子 1 (SDF-1) のレセプターであり、CD34 細胞、B 前駆細胞、成熟 T 細胞、B 細胞、単球など多くの血液細胞に発現し、*CXCR4* は多彩な生物学的機能を有することが知られているが、WHIM 症候群における責任遺伝子 (*CXCR4*) の病態生理学的役割を明らかではない。本症での *CXCR4* 変異蛋白の機能を解明する目的で、2 卵性双胎姉妹症例を検討した。姉、妹および父で *CXCR4* 領域の 334 番目 (1000C-T) がヘテロに変異し、ストップコドンとなっていた。母と兄とでは変異を認めず、父の体細胞で突然変異が起こり、その変異遺伝子が姉妹に遺伝したため WHIM 症候群が発症したと考えられた。患者の好中球では SDF-1 に対して、アポトーシスの遅延と走化能の亢進が認められたが、リンパ球では正常人と差はなかった。

9) 外胚葉形成不全免疫不全症

幼少期より易感染性と下痢を伴った症例を経験し、歯牙形成不全と発汗異常を伴っていたこと I KK- β 蛋白をコードする *NEMO* 遺伝子変異が証明されたことより、外胚葉形成不全免疫不全症と診断した症例を経験した。同患者は 3 歳の時より激しい痛みを伴った間質性肺炎像、また 4 歳の時には歩行困難なほどの膝関節炎を伴った膠原病様症状を呈し、現在ステロイド剤およびメソトレキサート少量療法とシクロスポリンで小康を得ている。同疾患では臨床症状が多彩であることが知られているが、自己免疫性疾患の症状を示した症例の報告がなく、今後の注意深い観察を必要と思われる。

10) プロテオーム解析による免疫不全症の原因探索

原因不明な免疫不全症の原因遺伝子の同定へのプロテオーム解析の適応を試みた。まず、既知の単一遺伝子欠損マウス及び免疫不全症細胞を用いて 2 次元電気泳動 (2D) 解析を行った。細胞骨格を構成するモエシン欠損マウスの細胞では、モエシンの欠損が検出された。XLA 及び WAS 患者由来の細胞株の解析では、BTK 欠損は検出可能であったが WASP は困難であった。しかし、4 つの WAS 患者由来細胞株は同様な 2D パターンを

示し、患者細胞に特異的な蛋白が同定できたことから、プロテオーム解析による疾病関連蛋白同定の可能性が示唆された。TCR発現低下を伴う未知先天性免疫不全症と考えられる患者の末梢リンパ球にこの2D解析を応用した。TCR刺激培養後に患者特異的に欠損している蛋白として procaspase-3 を同定した。しかし、刺激前の患者リンパ球では procaspase-3 が発現し、活性化されていることが判明した。caspase-8 も同様であり、アポトーシスシグナルの制御に異常があると考えられた。

4. 治療法の改良と遺伝子治療研究

1) 血液幹細胞移植

原発性免疫不全症の根治療法としての骨髄移植や臍帯血移植などの血液幹細胞移植は、ここ10年間で150例以上に実施され、定着してきているものと考えられる。JAK3異常によるSCIDの7ヶ月女児に、HLA一座不一致非血縁臍帯血造血幹細胞移植を施行した。ここでは、前処置は行わず、GVHD予防には短期メソトレキセートとFK506を用いた。細胞性免疫能の改善は順調で、経過中急性、慢性GVHDは認められなかった。臍帯血バンクドナーを用いたCBSCTはHLA一致血縁ドナーが得られない症例において短期間にドナーが得られることやドナーの負担がないこと、成人血と異なりHLA不適合移植においても比較的GVH反応が弱いことや潜伏ウイルス感染のリスクがほとんどないことなどから今後SCIDの根治療法の有望な選択肢の一つになり得ると考えられた。

しかし、一般に、移植に伴う合併症は避けることができなく、その軽減が求められている。最近、血液幹細胞移植一つの選択肢として、患者に優しい骨髄非破壊的同種骨髄移植 (RIST) が有望視されている。7ヶ月男児のX-SCIDで fludarabine と busulfan による骨髄非破壊的臍帯血移植を施行し、明らかなGVHDはなく、免疫機能の回復も順調に経過している。今後、他の原発性免疫不全症への応用も試みたいと考える。

2) 血液幹細胞移植後のT細胞再構築

血液幹細胞移植後の病態評価と移植後の免疫能回復を客観的指標として、TCRの多様性をマ-

ーカーとしたT細胞機能評価の可能性を検討した。SCID症例4例を対象として、末梢血T細胞のTCRの多様性の移植後の動態を、TCR V β repertoire 分布ならびにCDR3サイズ解析により評価した。血液幹細胞移植前はいずれの症例においてもTCR多様性は著しく制限されていた。一方、移植後1ヶ月後ではCD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞のいずれにおいてもTCR多様性の著しい改善が認められた。経時的な観察では、GVHDや感染症の合併に伴いTCR多様性の低下が認められ、このような傾向は特にCD8⁺T細胞において顕著であった。これらの結果は、胸腺由来のナイーブT細胞が末梢血中に増加する以前の早い段階で、ドナー由来の成熟T細胞の増殖が起こること、それらが移植後早期のT細胞機能回復に重要な役割を果たす可能性を示唆していた。また移植後合併症が少なく順調に回復した症例では、移植後早期のTCR多様性は経過を追って維持されており、T細胞再構築の客観的評価の指標としてTCR多様性解析は有用であると考えられた。

2) 遺伝子治療の臨床応用

北大においてADA欠損症2例に対して、平成15年と平成16年に、骨髄の血液幹細胞を標的にした遺伝子治療を実施された。PEG-ADAによる酵素療法を持続することなく、臨床経過は順調であることが観察されている。ここでは、前処置なしで遺伝子導入細胞を輸注したが、リンパ球数の増加はイタリアの同様の遺伝子治療例に比較して緩慢であり、BおよびNK細胞数の増多も現時点ではみられていない。イタリアでは busulfan 投与による前処置を施行しており、このことが両者の臨床経過の差に影響しているものと考えられた。臨床効果の面からは前処置の施行がより早期の免疫能の再建には必要に思えるが、本研究においても今後の免疫能再建は十分に期待でき、またイタリアの症例での busulfan による晩期障害の発現等の懸念もあることから、より長期に渡り経過をみることでより効果的かつ安全性の高い治療法の確立を目指す必要があると考えられる。

XSCIDについては東北大学にて準備が進んでいるところであるが、2005年になりフランスの実

施例で新たに白血病発症例が見つかり、世界的にもXSCIDの遺伝子治療が暗礁に乗り上がっている。国際的動向を鑑み、我が国での実施の可能性を探ることとしたい

3) 遺伝子治療の基礎的検討

造血幹細胞を標的としてウイルスベクターを用いた免疫不全症に対する遺伝子治療については、休止期の造血幹細胞にも遺伝子導入が可能なレンチウイルスベクターを用い、マウス造血細胞に遺伝子導入しXLA遺伝子治療の可能性を明らかにした。

5. ホームページの充実と患者QOLの改善

ホームページを通じての患者・家族からの問合せがあり、その対応には分担研究者間で密に連携をとりながら鋭意努めているところである。しかし、原発性免疫不全症が比較的まれな疾患であることより、患者・家族にとって分かり易い解説書や安心して治療に専念できる専門病院の情報に対する要望が強い。今後、頻度の高い疾患に関する日常生活マニュアルの作成を行い、加えて、専門病院として開示可能な施設の調査をすることで専門病院の整備を図る必要があると考える。

Ⅲ 分担研究報告

原発性免疫不全症候群に関する研究

岩 田 力 (東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻
小児医学講座発達教育学分野)

【研究要旨】

原発性免疫不全症候群症例の登録は、従来の方法で行われた。本年度は合計で18例（男性12例、女性6例）の登録を得た。その内訳は重症複合免疫不全症（SCID）3例（共通ガンマ鎖欠損症2例、T細胞受容体 $\alpha\beta$ 鎖欠損症男児1例）、伴性無ガンマグロブリン欠損症3例（兄弟1組を含む）、分類不能型免疫不全症の女児1例、ウイスコット・アルドリッチ症候群3例、DiGeorge症候群1例（女児）、ataxia telangiectasia 1例（男児）、高IgE血症症候群2例（女児）、慢性肉芽腫症2例（男児）、好中球減少症1例（女児）、Good症候群1例（65歳女性）である。このうちGood症候群の例は、研究班のホームページをみた患者家族からの問い合わせにより主治医の了承を得て登録された。本登録事業開始以来の延べ登録数は男性907例、女性343例、合計1250例である。また、現行の登録票（C票）を用いた1993年以降の合計は男性364例、女性111例、合計475例である。これらの数字は、近年登録が進んでいるヨーロッパの国々特に北欧、イタリアなどの各国における総数に比較して少なく、従来の手法による登録の限界を示している。より正確な登録事業を行なうためには、特定疾患患者調査個人票の参照、小児慢性疾患登録例の参照が必要であり、いくつかの疾患については、その疾患を集約している研究者に依頼し、独自に把握している症例の確認を行うなどの地道な作業が必要となる。

A. 研究目的

原発性免疫不全症は、稀な疾患であるが、典型例の多くは致死的な疾患である。その病因・病態、治療に関して、研究上の進展はあるが、貴重な症例から学ぶことは多く、研究者個別の限られた症例からの体験、研究のみでは進展が望めない部分がある。従って、症例の情報を集積し、それらを研究者間で共有することによって複数のアプローチによる研究の進展が期待できる。それは最終的には現在行っている治療法の改善と、さらに新たな治療法の開発を可能にせしめるものである。本研究の目的は、わが国における原発性免疫不全症候群症例の登録を推進することによって、疾患の解明と治療法の改善に関する研究に寄与することである。

B. 研究方法

わが国における原発性免疫不全症候群に関する

症例報告を、日本小児科学会総会、各地方会、日本小児感染症学会、日本小児アレルギー学会、日本臨床免疫学会、日本アレルギー学会、日本免疫学会等の学会報告および原著論文を渉猟し、新規と思われる症例に関し、発表演題もしくは論文の著者へ直接登録依頼状と登録票（現行のC票）を郵送することにより、本研究班への登録を依頼した。この依頼に回答され主治医から返送された登録票は、そのままファイリングするとともに、既に電子化されているC票のみの集計ファイルへ転記し、ファイルの更新をはかった。

倫理面への配慮は、これらのファイルを専用のキャビネットへ収納し、施錠できる部屋にて保存することで、不特定多数のものから秘匿することによって行った。また電子化されたファイルは、本登録事業担当者のみがアクセスできるコンピューターで管理した。

C. 研究結果

平成16年度の新規登録は合計18例である。内訳は以下のとおりである。重症複合免疫不全症 (SCID) 3例 (共通ガンマ鎖欠損症2例、T細胞受容体 $\alpha\beta$ 鎖欠損症男児1例)、伴性無ガンマグロブリン欠損症3例 (兄弟1組を含む)、分類不能型免疫不全症の女児1例、ウィスコット・アルドリッチ症候群3例、DiGeorge症候群1例 (女児)、ataxia telangiectasia 1例 (男児)、高IgE血症症候群2例 (女児)、慢性肉芽腫症2例 (男児)、好中球減少症1例 (女児)、Good症候群1例 (65歳女性) である。このうち Good 症候群の例は、研究班のホームページをみた患者家族からの問い合わせにより主治医の了承を得て登録された。本登録事業開始以来の延べ登録数は男性907例、女性343例、合計1250例である。また、現行の登録票 (C票) を用いた1993年以降の合計は男性364例、女性111例、合計475例である。累積の登録を表1、C票の累積を表2に示す。ちなみに平成14年度から3年間の新規登録症例数は、53例であった。

D. 考 察

今年度の新規登録症例数は18例と、やや少ない結果であった。学会論文、発表抄録を個別に参照し、演者、著者へ登録依頼を発送しているが、これまでの研究内容で報告したように、依頼総数は、如何にそれら論文等を検索できたかというメンバーの条件に左右される点、また、実際に登録票が返送される率が低い点の二つの条件によって、各年度における新規登録数が決定される。また、前年度までの考察で述べたものと同様に、原発性免疫不全症候群は稀な疾患ではあるが、以前に比較して簡単な症例報告だけでは発表の機会に乏しく、かつ発表価値の低下があるものと思われ、単発的な症例報告は減少してきている印象がある。これは実際に発表数そのものを調査したわけではないため正確ではないが、小児科学会、分科会等の学問的なレベルが上がっていることと表裏一体をなすように、日頃経験している症例を、学問的には不十分な状態であっても気軽に発表し臨床経

験を共有するような機会が少なくなっていることが想定される。一方で、遺伝子診断が可能となったことにより、発表症例においては従来よりも確定診断に至っているものが多く、登録症例の精度は上がっている。この遺伝子診断に関連して、個別の疾患を専門的に研究している施設のもとには、当該疾患の紹介症例が集積されている。本研究班班員は、それら専門施設の研究者であるため、集積症例を、登録事業へ改めて照会することは可能であると思われるが、各症例の情報は必ずしも十分とは言えず、また主治医からの依頼内容には、患者名が明記されないこともあり、必要な情報を改めてもとの主治医へ問い合わせしなければならず、煩雑な作業が要求されるのが実情である。

わが国において、稀少な疾患であるが致死的であり、更なる病因の解明と治療法の進展が期待される原発性免疫不全症候群の正確な発生数と有病率を把握するためには、症例の登録は必須であろう。今後よりいっそうの登録事業の充実がなされなければならない。既に登録されている症例の分類に関しても、従来から原発性免疫不全症の診断名と分類の規範となっている International Union of Immunology Society, IUIS による分類が、病因論の進展により改訂されてきていることに伴って、逐一整理されるべきと考えられる。C票による登録症例に関しては、その作業は可能であり、今後の課題の一つである。さらに登録事業そのものを、オンラインでも可能となるような方法の模索が必要であろう。そのためには要求する情報の簡略化と、それに関連した診断基準の新規策定も必要である。厳密な個人情報の秘匿管理が必要であることは言うまでもないが、専門的技術的なアドバイスを必要とする。最後に、従来から要請していた、特定疾患治療対策事業の臨床調査個人票の参照が申請許可制となったことを受けて、今後の研究課題として本登録事業との照合をする必要がある。

E. 結 論

我が国における原発性免疫不全症候群症例の登録事業を従来の手法に則って継続実施した。新規

登録は18例であったが、うち1例の成人例は、本研究班ホームページより登録事業の存在を知った家族からの連絡によった。登録事業のより正確な実施を目的として、今後のオンライン化、治療対策事業の臨床調査個人票との照合が今後の課題である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hirotsugu Kano, Yasuhiko Ito, Kentaro Matsuoka, Toshiharu Nakajima, Tsutomu Iwata, Takao Kohsaka, Hirohisa Saito, and Jun Abe: Critical role of T cell migration in bacterial superantigen-mediated shock in mice. *Clinical Immunology* 2004;110:159-171

岩田 力：原発性免疫不全症候群症例登録について 日本小児科学会雑誌108(5):735-743, 2004

表1 原発性免疫不全症候群登録症例数

厚生労働省特定疾患「原発性免疫不全症候群」調査研究班
2004年11月19日現在

疾患	登録総数			% ¹⁾ 成人例	% ²⁾
	男	女	合計		
重症複合免疫不全症	89	25	114	9.1	0
ADA 欠損症	6	3	9	0.7	0
PNP 欠損症	0	1	1	0.1	0
MHC Class II 欠損症	0	0	0	0	0
細網異形成症	1	0	1	0.1	0
ZAP70 欠損症 (CD8 欠損症)	1	1	2	0.2	0
CD4 欠損症	2	0	2	0.2	0
小計	99	30	129	10.3	0
伴性無γグロブリン血症	133(+36)	1	134(+36)	10.7	1
成長ホルモン欠損を伴う伴性型無γグロブリン血症	1	0	1	0.1	0
IgM 増加を伴う免疫不全症	36	11	47	3.8	4
免疫グロブリン重鎖遺伝子欠損症	0	0	0	0	0
カッパ鎖欠損症	0	0	0	0	0
IgA 欠損症	59	50	109	8.7	15
IgG サブクラス欠損症	21	5	26	2.1	0
IgM 欠損症	8	5	13	1.0	5
CVID	108	60	168	13.4	21
乳児一過性低γグロブリン血症	28	15	43	3.4	0
その他の抗体不全症	5	0	5	0.4	1
小計	399(+36)	147	546(+36)	43.7	47
Wiskott-Aldrich 症候群 (X-linked thrombocytopenia) (内数)	86 (1)	(2)	86(88) (1)	6.9	0
Ataxia telangiectasia	43	36	79	6.3	1
DiGeorge 症候群 (DiGeorge anomaly)	31	16	47	3.8	0
その他の胸腺低形成症	5	4	9	0.7	0
小計	165	58	223	17.8	1
短肢侏儒を伴う免疫不全症	1	4	5	0.4	0
高 IgE 症候群	25	24	49	3.9	0
慢性皮膚粘膜カンジダ症	7	9	16	1.3	2
胸腺腫を伴う免疫不全症	5	5	10	0.8	10
小計	38	42	80	6.4	12
慢性肉芽腫症	158(+55)	21(+7)	179(+62)	14.3	2
Chédiak-Higashi 症候群	9	9	18	1.4	0
その他の食細胞機能異常症	12	11	23	1.8	0
小計	179(+55)	41(+7)	220(+62)	17.5	2
補体成分の欠損症	14	16	30	2.4	7
その他	13	9	22	1.8	1
合計	907(+91) (72.6)	343(+7) (27.4)	1250(+98) (100.0)		70 (5.6)

註1: 成人例とは、診断確定時に20歳以上であったもの。

註2: %¹⁾は、登録全症例におけるその疾患の症例数の百分率

註3: %²⁾は、その疾患の症例のうち、成人例の百分率

註4: XLA と CGD の括弧内は本登録以外に存在が判明している症例数

註5: その他の食細胞機能異常症の中に Kostmann syndrome と LAD type 1 を含めた。

註6: その他の中に、IPEX と HED-ID (低汗性外胚葉形成不全を伴う免疫不全症) などを含めた。

表2 C票による原発性免疫不全症候群登録症例数（1992年以降）

厚生労働省特定疾患「原発性免疫不全症候群」調査研究班
2004年11月19日現在

疾患	登録総数			%
	男	女	合計	
重症複合免疫不全症 (XSCID)	38 (12)	12	50 (12)	10.5
(ADA 欠損症)	(2)	(3)	(5)	
Omenn syndrome	3	1	4	0.8
ZAP70 欠損症 (CD8 欠損症)	1	1	2	0.4
CD4 欠損症 (疑診 1 例を含む)	3	0	3	0.6
IgM 増加を伴う免疫不全症 (XHIM)	20 (14)	7	27 (14)	5.7
その他の combined immunodeficiency	2	3	5	1.1
小計	67	24	91	19.2
伴性無γグロブリン血症	69	1	70	14.7
成長ホルモン欠損を伴う無γグロブリン血症	1	0	1	0.2
IgA 欠損症	9	6	15	3.2
IgG サブクラス欠損症	16	4	20	4.2
CVID (common variable immunodeficiency disease)	28	11	39	8.2
乳児一過性低γグロブリン血症	2	2	4	0.8
その他の抗体不全症	3	0	3	0.6
小計	128	24	151	31.8
Wiskott-Aldrich 症候群 (X-linked thrombocytopenia) (内数)	36 (1)	(1)	36(37) (1)	7.6
Ataxia telangiectasia	11	11	22	4.6
Bloom 症候群	1	0	1	0.2
DiGeorge 症候群 (DiGeorge anomaly)	8	8	16	3.4
その他の胸腺低形成症 (Nezelof 症候群)	0	1	1	0.2
小計	56	21	77	16.2
短肢侏儒を伴う免疫不全症	1	2	3	0.6
高 IgE 症候群	13	10	23	4.8
慢性皮膚粘膜カンジダ症	3	2	5	1.1
胸腺腫を伴う免疫不全症	0	1	1	0.2
小計	17	15	32	6.7
慢性肉芽腫症	74	8	82	17.3
Chédiak-Higashi 症候群	2	4	6	1.3
Leukocyte adhesion deficiency	1	1	2	0.4
好中球減少症	2	4	6	1.3
小計	79	17	96	20.2
補体成分の欠損症	7	7	14	2.9
その他				
ICF syndrome	1	1	2	0.4
Hoyeraal-Hreidarsson syndrome	1	0	1	0.2
ALPS (autoimmune lymphoproliferative syndrome)	1	0	1	0.2
XLP (X-linked lymphoproliferative syndrome)	1	0	1	0.2
慢性活動性 EBV 感染症	0	1	1	0.2
IPEX syndrome	1	0	1	0.2
低汗性外胚葉形成異常を伴う免疫不全症	2	1	3	0.6
その他	3	0	3	0.6
小計	10	3	13	2.7
合計	364 (76.6)	111 (23.4)	475 (100)	100

高 IgM 症候群75例の臨床的検討

今 井 耕 輔 (防衛医科大学校小児科)

森 西 洋 一 (防衛医科大学校小児科)

堀 内 勝 行 (防衛医科大学校小児科)

野々山 恵 章 (防衛医科大学校小児科)

【研究要旨】

高 IgM 症候群 (HIGM) は血清 IgM が正常～高値、血清 IgG, IgA, IgE の低値を示す先天性免疫不全症であり、タイプ 1-タイプ 5 まで知られている。今回、我々は HIGM 患者 75 症例について、遺伝子診断を含めた確定診断方法の確立、臨床像の検討による病態の理解、それにもとづいた適切な治療法の開発の確立を検討した。さらに、HIGM 新規責任遺伝子 UNG を同定し、その機能解析を行った。また、患者において免疫グロブリンクラススイッチの障害がいかにして起きているのかについても検討したので報告する。

A. 研究目的

高 IgM 症候群 (HIGM) は血清 IgM が正常～高値、血清 IgG, IgA, IgE の低値を示す先天性免疫不全症である。易感染性を示し、細菌性気道感染としては中耳炎、副鼻腔炎、扁桃炎、気管支炎、肺炎をきたす。いくつかのタイプに分けられ、真菌感染、ウイルス感染、カリニ肺炎、クリプトスポリジウム感染などの T 細胞機能不全による日和見感染を合併するタイプもある。SCID, B 細胞欠損症とは異なり T, B 細胞数は正常であり、クラススイッチの異常が表現系として出てくる疾患群である。これまでに CD40 ligand, AID, CD40, NEMO などの責任遺伝子が同定されタイプ別の遺伝子診断が可能になってきているが、いまだ臨床病像については不明な点がある。また、いまだ責任遺伝子の同定されていない HIGM 患者も多数存在する。

今回我々は、遺伝子診断により診断を確定できた症例については、その臨床像をタイプ別に解析し、また新規遺伝子 UNG の同定とその機能解析、さらに未知の遺伝子が原因である HIGM についてはその免疫異常がどこから起きているのかについて検討した。

この研究により、HIGM 患者の確定診断方法

の確立、病態の理解、適切な治療法の開発をすることを目的とした。

B. 研究方法

患者は、当科に診断依頼のあった高 IgM 症候群患者 75 例を対象とした。患者末梢血より B 細胞を磁気ビーズにより分離し、CD40+IL4 刺激により *in vitro* の増殖能、クラススイッチ能を検討した。樹立した EB 細胞株より genomic DNA, cDNA を作製し、direct sequence により遺伝子変異を同定した。体細胞突然変異は患者 B 細胞より cDNA を作製し、VH 領域の変異を多数のクローンで sequence して検討した。DNA 2 重鎖切断は、CD40+IL4 刺激後の B 細胞の Sm 領域を linker mediated semi-nested PCR (LM-PCR) 法にて Sm 特異的 Probe でハイブリダイズして検討した。UNG (Uracil-DNA glycosylase) 蛋白量は特異抗体を用いた Western blot で、UNG 活性は U の除去能を、除去されフリーの状態にあるラベルした U を測定することで検討した。

(倫理面での配慮)

ヒトゲノム解析の指針に基づき、十分な説明の上自主的な意志による遺伝子解析のインフォームドコンセントを文書にて得るとともに、患者検体