

施設が関与していることも多いため、重複した登録を避けるために個々の症例を詳しく把握することである。そのためには氏名と生年月日の情報が重要であるが、法律上の制約が生じることはやむを得ない。何らかの方策が必要であるが、このことは、特定疾患医療受給者の臨床調査個人票や、今後小児慢性特定疾患における原発性免疫不全症症例登録を参照する場合も同様である。

今年度は、東京都で集計される特定疾患の臨床調査個人票の閲覧許可申請を行い、許可されたために、改めて新規のみならず更新症例についても臨床調査個人票の閲覧を申請した。ところが、事務処理上すべての特定疾患が審査年月日ごとにまとめられており、原発性免疫不全症のみを取り出してまとめることが限られた人員においては殆ど不可能であるとの回答であった。そのファイリング方式においてやや理解不能の部分もあったが、やむを得ず平成15年からの新規症例のみの閲覧を申請し、臨床調査個人票のコピーを期限付きで得た。計26症例であった。表3に示したように、臨床調査個人票の書式は、平成16年から一部変更され、特に遺伝子診断の有無に関する項目が付け加えられた。その項目のない平成15年における新規症例については、例えば低ガンマグロブリン血症と診断されている3歳男児例や、IgG欠乏症との診断名を与えられている7歳男児例などは、伴性無ガンマグロブリン血症（Btk欠損症）との鑑別のために遺伝子診断がなされたかどうか全く不明である。さらに臨床調査個人票の様式設定にも関連することであるが、原発性免疫不全症としての診断名の蓋然性に疑問を持つものもある事がわかる。例えば、平成18年症例の特発性CD4⁺T細胞欠損症との診断において、確かにCD4⁺T細胞数は100/ μ lとの低値であるが、CD4/CD8は1.02であり、CD8⁺T細胞の減少も疑われ、鑑別診断の重要性を示唆するものである。しかも、リンパ球芽球化反応も行われていないなど、原発性免疫不全症候群は否定されないものの症例研究の立場からは疑問が存在する登録例も散見される。また、平成16年登録の高IgM症候群は、本研究班による

登録事業のデータから、ataxia telangiectasiaと最終診断された症例と同定された。この症例は、診断名訂正が為されない限り、臨床調査個人票による集計が行われた際には、誤った結果を与えることになる。IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked) やAPECED (autoimmune polyendocrinopathy with candidiasis and ectodermal dystrophy) のように極めて稀な疾患が本研究班の症例報告を渉猟する方法によって登録へ至らない理由としては、内分泌学分野での治療継続が行われていることが一つ考えられる。

熊本県から送付された臨床調査個人票においても、原発性免疫不全症としての診断名の是非に関しての検討が必要である。

小児慢性特定疾患、血友病等血液疾患の範疇で登録されている原発性免疫不全症候群については、小児慢性特定疾患そのものが法的な裏付けがなされたため、今後精度管理や運用法も微調整が行われていくであろうが、今回はとりあえず診断名とその症例数のみを取り出してみた。用いられている疾患名で、今後診断の精度を高めるために内容の検討が必要であると考えられるものは、低ガンマグロブリン血症、先天性無ガンマグロブリン血症、免疫グロブリン欠損症、分類不能型免疫不全症、IgG単独欠損症、IgM欠損症、白血球機能異常症、そして内容の不明な原発性免疫不全症である。今後は、小児慢性特定疾患の医療意見書の閲覧許可も申請して、具体的な記入項目について検討していく必要がある。

従来法による登録事業の限界については、既に数年にわたり述べてきているが、抜本的な解決策に乏しいまま経過したことは、反省すべき点である。今後は、本研究班で進行している血液検体の採取を含めたデータベースづくりとの連携が可能であるか、紙媒体をなくす形でのインターネットによる登録の可能性、特定疾患臨床調査個人票記載内容の検討から診断精度管理の提言（適宜閲覧

の機会を得ての協力作業)、そして小児慢性特定疾患治療研究事業内の原発性免疫不全症登録との連携の可能性など、課題は多いと考える。

E. 結 論

およそ30年以上にわたる登録事業の継続と、東京都の特定疾患医療受給者の臨床調査個人票の閲覧許可を得て記載内容の検討をした。また熊本県からの臨床調査個人票も少数ではあるが同様に記載内容の検討をした。小児慢性特定疾患として登録された原発性免疫不全症もその疾患名と症例数のみ取り出したが、稀少な疾患の原因、病態生理の把握並びに治療法の改善と開発においてわが国における原発性免疫不全症候群症例登録は重要であり、かつ臨床調査個人票においてはそれらを調査することによって、臨床診断の精度を上げることの重要性も指摘した。小児慢性特定疾患治療研究事業における全国登録との関連も模索する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

岩田 力：原発性免疫不全症の分類とわが国におけるその頻度 小児科47(1):3-16, 2006

岩田 力：原発性免疫不全症候群 特集：小児から成人へのキャリアオーバー 小児科47(10):1499-1515, 2006

岩田 力：DiGeorge 症候群 小児疾患の診断治療基準第3版、小児内科第38巻増刊号、p.234-235, 2006

岩田 力、奥山伸彦：免疫・アレルギー疾患 New Bedside Memo 小児科 改訂2版、p.397-460、2006年2月10日、南山堂

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

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
2007年1月18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	94	27	121	9.4	0	0
ADA 欠損症	6	3	9	0.7	0	0
PNP 欠損症	0	1	1	0.1	0	0
MHC Class II 欠損症	0	0	0	0	0	0
細網異形成症	1	0	1	0.1	0	0
ZAP70 欠損症 (CD8 欠損症)	1	1	2	0.2	0	0
CD4 欠損症	2	0	2	0.2	0	0
IRAK-4 欠損症	2	0	2	0.2		
小計	106	32	138	10.7	0	0
伴性無γグロブリン血症	137(+36)	1	138(+36)	10.7	1	0.7
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	0
IgM 増加を伴う免疫不全症	37	12	49	3.8	4	8.2
免疫グロブリン重鎖遺伝子欠損症	0	0	0	0	0	0
カッパ鎖欠損症	0	0	0	0	0	0
IgA 欠損症	59	51	110	8.5	15	13.6
IgG サブクラス欠損症	21	6	27	2.1	0	0
IgM 欠損症	8	5	13	1.0	5	38.5
CVID	110	61	171	13.3	21	12.3
乳児一過性低γグロブリン血症	28	15	43	3.3	0	0
その他の抗体不全症	5	0	5	0.4	1	20.0
小計	406(+36)	151	557(+36)	43.3	47	8.4
Wiskott-Aldrich 症候群 (X-linked thrombocytopenia) (内数)	86 (1)	(2)	86(88) (1)	6.8	0	0
Ataxia telangiectasia	44	37	81	6.3	1	1.2
DiGeorge 症候群 (DiGeorge anomaly)	31	16	47	3.7	0	0
その他の胸腺低形成症	5	4	9	0.7	0	0
小計	166	59	225	17.5	1	0.4
短肢侏儒を伴う免疫不全症	1	4	5	0.4	0	0
高 IgE 症候群	26	24	50	3.9	0	0
慢性皮膚粘膜カンジダ症	7	9	16	1.2	2	12.5
胸腺腫を伴う免疫不全症	5	5	10	0.8	10	100.0
小計	39	42	81	6.3	12	14.8
慢性肉芽腫症	161(+55)	22(+7)	183(+62)	14.2	2	1.1
Chédiak-Higashi 症候群	9	9	18	1.4	0	0
その他の食細胞機能異常症	12	11	23	1.8	0	0
小計	182(+55)	42(+7)	224(+62)	17.4	2	0.9
補体成分の欠損症	14	16	30	2.3	7	23.3
その他	22	10	32	2.5	1	3.1
合計	934(+91) (72.6)	353(+7) (27.4)	1287(+98) (100.0)		70 (5.4)	

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、EDA-ID (低汗性外胚葉形成不全を伴う免疫不全症)、XLP、ALPS、Bloom 症候群などを含めた。

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
2007年1月18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	94	27	121	9.4	0	0
ADA 欠損症	6	3	9	0.7	0	0
PNP 欠損症	0	1	1	0.1	0	0
MHC Class II 欠損症	0	0	0	0	0	0
細網異形成症	1	0	1	0.1	0	0
ZAP70 欠損症 (CD8 欠損症)	1	1	2	0.2	0	0
CD4 欠損症	2	0	2	0.2	0	0
IRAK-4 欠損症	2	0	2	0.2		
小計	106	32	138	10.7	0	0
伴性無γグロブリン血症	137(+36)	1	138(+36)	10.7	1	0.7
成長ホルモン欠損を伴う伴性無γグロブリン血症	1	0	1	0.1	0	0
IgM 増加を伴う免疫不全症	37	12	49	3.8	4	8.2
免疫グロブリン重鎖遺伝子欠損症	0	0	0	0	0	0
カッパ鎖欠損症	0	0	0	0	0	0
IgA 欠損症	59	51	110	8.5	15	13.6
IgG サブクラス欠損症	21	6	27	2.1	0	0
IgM 欠損症	8	5	13	1.0	5	38.5
CVID	110	61	171	13.3	21	12.3
乳児一過性低γグロブリン血症	28	15	43	3.3	0	0
その他の抗体不全症	5	0	5	0.4	1	20.0
小計	406(+36)	151	557(+36)	43.3	47	8.4
Wiskott-Aldrich 症候群 (X-linked thrombocytopenia) (内数)	86 (1)	(2)	86(88) (1)	6.8	0	0
Ataxia telangiectasia	44	37	81	6.3	1	1.2
DiGeorge 症候群 (DiGeorge anomaly)	31	16	47	3.7	0	0
その他の胸腺低形成症	5	4	9	0.7	0	0
小計	166	59	225	17.5	1	0.4
短肢侏儒を伴う免疫不全症	1	4	5	0.4	0	0
高 IgE 症候群	26	24	50	3.9	0	0
慢性皮膚粘膜カンジダ症	7	9	16	1.2	2	12.5
胸腺腫を伴う免疫不全症	5	5	10	0.8	10	100.0
小計	39	42	81	6.3	12	14.8
慢性肉芽腫症	161(+55)	22(+7)	183(+62)	14.2	2	1.1
Chédiak-Higashi 症候群	9	9	18	1.4	0	0
その他の食細胞機能異常症	12	11	23	1.8	0	0
小計	182(+55)	42(+7)	224(+62)	17.4	2	0.9
補体成分の欠損症	14	16	30	2.3	7	23.3
その他	22	10	32	2.5	1	3.1
合計	934(+91) (72.6)	353(+7) (27.4)	1287(+98) (100.0)		70 (5.4)	

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、EDA-ID (低汗性外胚葉形成不全を伴う免疫不全症)、XLP、ALPS、Bloom 症候群などを含めた。

毛細血管拡張性小脳失調症(AT)の全国調査 二次アンケート解析と遺伝子解析結果

森 尾 友 宏 (東京医科歯科大学大学院発達病態小児科学分野)

水 谷 修 紀 (東京医科歯科大学大学院発達病態小児科学分野)

【研究要旨】

毛細血管拡張性小脳失調症 (Ataxia telangiectasia: 以後ATと略す) は、稀な疾患 (40,000人から100,000人に1人) である。免疫不全症に分類されるが、小脳失調を主体とし、毛細血管拡張を認める年齢が6歳前後であること、疾患への認識が不十分であることなどから、診断に至らない症例数も多いと考えられている。

平成17年度には、本研究班を通じてわが国ではじめてのAT全国調査を行った。661施設/1223部局にアンケートを送付し、665部局 (54.8%) から回答を得た。本年度はさらに継続して2次アンケートを行い、90名の患者を把握し、62名の患者からの詳細な情報を回収して、データを解析した。高IgM症候群を呈する患者、低 γ グロブリン血症を呈する患者、EBV感染症患者、兄弟例の比較などから、新たな検討課題が浮かび上がっている。生存中の27名の患者のうち13名には遺伝子解析を行い、11名では haplotype 解析も行った。今後遺伝子型と表現型の相関や、特徴的な症状・所見との関連性を検討する予定である。また今後HPを立ち上げ、情報を発信する場を提供する予定である。

A. 研究目的

ATは比較的稀な原発性免疫不全症であるが、主体となる症状が小脳失調であること、免疫不全症を呈する患者は70%程度であること、毛細血管拡張の出現が6歳前後 (平均) であることなどから、診断に至っていない症例、小児血液・免疫専門医にフォローされていない-あるいは併診されていない-症例も多いことが予想される。

ATの責任遺伝子は ataxia telangiectasia mutated (ATM) であることが判明しており、ATM分子に関する基礎的研究の進歩は著しいが、一方臨床に根ざした研究成果を顧みると、感染症の一因となる免疫能低下についても表面的な解析が多く、患者の主症状である小脳失調、毛細血管拡張、代謝異常の病態解明は進んでいない。

今回の二次アンケートは、AT患者の神経症状発現の経過、感染症罹患歴の詳細、悪性腫瘍の発生・治療・成績、その他の随伴する症状などを明らかにし、より詳しいデータ解析を行うことを目

的としている。これによりAT患者における、あるいは診療における問題点を明らかにして、早期発見・適切な医療提供に向けて「疾患に対する認識」の向上を目指し、遺伝カウンセリング・フォローアップ・情報提供など意見交換の場を設立することが大きな目的の1つである。

さらに、基礎的な検討として、

- (1) ATM遺伝子変異・付加遺伝子多型と症状・所見の相関
- (2) ATM異常・ATM hetero 異常と染色体異常-悪性腫瘍-の発生の関係
- (3) ATMの脂肪細胞分化・インスリンシグナル経路への関与
- (4) ATMの免疫グロブリンクラススイッチへの関与

についても解析を加えた。この研究では、基礎的な検討と臨床的検討とが機能的に連関することにより、疾患の成り立ちのより良い理解、治療法の開発に結びつけることも目的とする。

今回の報告ではアンケート調査結果に焦点を絞り記載する。

B. 研究方法

全国の小児科、神経内科、神経専門施設661施設、1223部局に、封書方式にてアンケート調査を行った。665部局（54.8%）から回答が得られた。さらに90名の患者についての詳細な二次アンケートを送付し、62名から追加情報を得た。また追加情報のない症例が11名で、17名については回答を再依頼中である。

アンケート項目において質問した内容の抜粋は以下のとおりである。

- ・家族歴（悪性腫瘍）
- ・経過及び死亡原因
- ・小脳失調の詳細と発症時期
- ・感染症の種類と発症時期
- ・悪性腫瘍の種類・表現型・遺伝子異常・治療成績
- ・自己免疫疾患・内分泌疾患
- ・遺伝子変異
- ・染色体異常
- ・免疫学的所見：リンパ球サブセット・TCRレパートア、免疫グロブリン・EBV抗体価
- ・脂質・代謝関連所見及びデータ
- ・知能テスト・画像所見
- ・治療内容

また、希望者に対してはATの確定診断として、ATMの Western blot および、遺伝子変異解析を行った。共に末梢血から固相化CD3抗体とIL-2を用いて増殖活性化T細胞及び、あるいはEBV感染B細胞株を樹立して検討を行った。

（倫理面への配慮）

患者の特定できないアンケート調査であるため、倫理面への配慮は必要としないと判断したが、データは匿名化の上、インターネット接続されないコンピュータに保存し、解析を行っている。

一方ATMタンパク解析及び遺伝子解析に関しては、東京医科歯科大学医学部遺伝子倫理審査委員会に承認を受けている「免疫不全症患者の（網羅的）遺伝子解析」で用いる説明書・同意書を用

いてもらい、主治医よりの説明にて同意が得られた患者さんからの検体にて解析を施行した。

C. 研究結果

1. 診断、神経症状及び予後

診断時年齢は6歳9か月（11ヶ月～24歳6ヶ月）（中央値：範囲、以下同様の記述）で、現在生存中の患者年齢は14歳5ヶ月（4歳から53歳5ヶ月）、死亡年齢は19歳0ヶ月（5歳9か月～31歳10ヶ月）であった。小脳失調症状の出現は1歳6ヶ月（8ヶ月～5歳6ヶ月）、毛細血管拡張症状は6歳8ヶ月（1歳8ヶ月～13歳6ヶ月）であり、今まで報告されている欧米からの報告と大きな差異は認めなかった。神経症状としては全例で小脳失調が報告された。回答を得た42名のうち12名で舞蹈病を認め、ジストニア様運動も報告された。44名中30名は車椅子を使用していた。

死亡原因の1位は細菌感染症であり、特に誤嚥性肺炎が問題になっている。その他悪性腫瘍が直接死因となった症例も3名あり、悪性腫瘍治療中の感染症死亡者は2名であった。

2. 悪性腫瘍

白血病6名、悪性リンパ腫4名、その他2名との回答を得た。12名のうち寛解を得た症例は3名のみである。治療関連合併症（化学療法剤の直接毒性、感染症など）による死亡も多く、DNA損傷修復異常症に対する化学療法の難しさを反映している。

3. その他の症状・所見

EBV感染症罹患時に重症化した症例、あるいは持続感染となった症例が3例であった。その他、EBVに対する異常抗体価（VCA-IgG高値、EBNA陰性など）を示すものも数名存在し、EBV感染症に対する反応異常が示唆される。文献的には糖尿病などの内分泌異常も少なからず報告されているが、今回のアンケートでは6名が耐糖能異常を示した。その他、Cyclophosphamide 使用症例での長期的な出血性膀胱炎などいくつかの特徴的な症状が浮き彫りになった。

4. 免疫異常

今まで報告の多いT細胞減少のほか、B細胞数

も著減していることが明らかになっている。T細胞減少を支持する所見として、TREC (T cell receptor excision circle) の低下を認めた (1,100 ± 510 copy/μg DNA : 健常小児対照 20,700 copy ± 3,400 copy/μg DNA)。

また高IgM症候群の所見を呈した患者が4症例、低γグロブリン血症を示したものが3症例認められた。低γグロブリン血症を示した患者2名ではリンパ球減少が顕著であった。さらにこの2名は後に白血病、悪性リンパ腫に発展しており、リンパ球減少・低γグロブリン血症がその前兆であった可能性がある。

5. 兄弟姉妹例の比較

14家系28名の兄弟姉妹例が登録され、そのうち12家系24症例の解析が可能であった。症状所見に共通点を認めることがある一方、耐糖能、IgG, M, A, E値などに大きな違いを認める同胞例も存在した。特に高IgM、低IgG, IgAを示す患者4名のうち3名は、同胞があり、いずれも高IgMを呈していなかった。同胞例は同じ遺伝子異常を呈すると考えられ、modifier geneの存在、環境因子特に感染症の影響、などが想定される。

6. 診断

ATMタンパク発現検索にて発現の著しい低下あるいは欠損の認められた11症例について遺伝子解析及びShort tandem repeat haplotypingを行った。まずはcDNAを合成し、8つの領域を19のprimerで遺伝子解析して異常を検出し、さらに異常を認めた exon/intron において genomic sequencing を行った。13名のサンプルからは今までに14の allele における変異が同定され、さらに検索を進めている。今回の解析では日本人に特徴的な遺伝子異常は検出されなかったが、今後 haplotyping との組み合わせなどで、創始者変異などに迫れるものと考えている。

D. 考 察

今回の二次アンケート調査によって、日本のAT患者の診療状況が明らかになると共に、腫瘍、免疫能、附随症状などについての詳細なデータが蓄積した。今後このデータを元に、AT患者にお

ける様々な症状 (耐糖能異常、低身長など)、社会的問題点 (リハビリテーション、社会的支援、家族の会など)、更なる障害の予防方法 (電離放射線、活性酸素への暴露の制限など) などについて情報を集約して、Web上に公開して情報発信することを試みたいと考えている。

今回のアンケート調査で明らかになった問題点は、(1) AT患者を集約的に診療する施設がないこと、(2) 小児科医、内科医、血液腫瘍医、神経内科医など様々な分野の医師が診療を行っていること、(3) 1つの重篤な症状の出現に伴い、それに関する専門医がフォローの中心となること、(4) 悪性腫瘍に対する治療プロトコールにATM欠損であることが反映されていないこと (診断がつかずに治療を行っていることもあること)、(5) 患者への情報提供が不十分と予想されること、などが挙げられる。今後、ATに関する詳細な情報の共有により、患者の早期診断、より良いフォローアップ体制が確立することを期待している。

また免疫能の解析、免疫グロブリン産生能、免疫グロブリンクラススイッチ異常とATM遺伝子異常の解析などから、基礎的な知見が得られることも期待される。ATMは3056のアミノ酸から構成される巨大な分子で、その遺伝子解析結果は慎重に検討する必要があるが、今後の解析により、遺伝子型、modifier gene(s)と表現型がさらに明らかになっていくことが期待される。

E. 結 論

昨年度に引き続く研究により、AT患者のより詳細な症状、検査所見、フォローアップ体制、診療上の問題点が明らかになった。遺伝子解析を含む診断方法もほぼ確立した。今後、患者に対するより良いフォローアップ体制、治療体制を確立すべく、情報発信に努める予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. Watanabe S, Terashima K, Ohta S,

- Horibata S, Yajima M, Shiozawa Y, Dewan Md Z, Yu Z, Ito M, Morio T, Ahimizu N, Honda M, Yamamoto N. Hematopoietic Stem Cell-Engrafted NOD/SCID/IL2R γ ^{null} Mice Develop Human Lymphoid System and Induce Long-Lasting HIV-1 Infection with Specific Humoral Immune Responses. *Blood*, 109: 212-218, 2007.
2. Ohnuma-Ishikawa K, Morio T, Yamada T, Sugawara Y., Ono M, Nagasawa M, Yasuda A, Morimoto C, Ohnuma K, Dang NH, Hosoi H, Verdin E, and Mizutani S. Knockdown of XAB2 enhances All-Trans Retinoic Acid-Induced Cellular Differentiation in All-Trans Retinoic Acid-Sensitive and -Resistant Cancer Cells. *Cancer Research*. 67(3):1019-29, 2007.
3. Minegishi Y, Saito M, Morio T, Watanabe K, Agematsu K, Tsuchiya S, Takada H, Hara T, Kawamura N, Ariga T, Kaneko H, Kondo N, Tsuge I, Yachie A, Sakiyama Y, Iwata T, Bessho F, Ohishi T, Joh K, Imai K, Kogawa K, Shinohara M, Fujieda M, Wakiguchi H, Pasic S, Abinun M, Ochs HD, Renner ED, Jansson A, Belohradsky BH, Metin A, Shimizu N, Mizutani S, Miyawaki T, Nonoyama S, Karasuyama H. Human tyrosine kinase 2 deficiency reveals its requisite roles in multiple cytokine signals involved in innate and acquired immunity. *Immunity*. 25: 745-55, 2006.
4. Kobayashi R. Ariga T. Nonoyama S. Kanegane H. Tsuchiya S. Morio T. Yabe H. Nagatoshi Y. Kawa K. Tabuchi K. Tsuchida M. Miyawaki T. Kato S. Outcome in patients with Wiskott-Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan. *Br. J. Haematol.* 135(3): 362-6, 2006.
5. Kato M. Kimura H. Seki M. Shimada A. Hayashi Y. Morio T. Kumaki S. Ishida Y. Kamachi Y. Yachie A. Omenn syndrome--review of several phenotypes of Omenn syndrome and RAG1/RAG2 mutations in Japan. *Allergology International*. 55(2):115-9, 2006

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

本邦における Wiskott-Aldrich 症候群に対する造血幹細胞移植 57例の解析

小林 良 二 (北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻生殖・発達講座小児科学分野)
有賀 正 (北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻生殖・発達講座小児科学分野)
野々山 恵 章 (防衛医科大学校医学研究科小児科学)
金 兼 弘 和 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)
宮 脇 利 男 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)
土 屋 滋 (東北大学大学院医学系研究科発生・発達医学講座小児病態学分野)
矢 部 普 正 (東海大学医学部小児科)
永 利 義 久 (九州がんセンター小児科)
河 敬 世 (大阪府立母子保健総合医療センター)
田 渕 健 (神奈川県立こども医療センター血液科)
土 田 昌 宏 (茨城県立こども病院小児科)
加 藤 俊 一 (東海大学医学部小児科)

【研究要旨】

1985年1月から2004年12月の間に本邦で造血幹細胞移植を受けたWiskott-Aldrich症候群57人の解析をおこなった。ドナーは11例がHLA一致血縁者、10例がHLA不一致血縁者、21例が非血縁骨髄バンクドナー、15例が非血縁臍帯血バンクドナーであった。57例のうち9例が拒絶にいたり、7例において拒絶もしくは混合キメラのために再移植をおこなった。5年生存率は $73.7 \pm 6.1\%$ で、5年のfailure free survival (死亡・拒絶・2次癌をfailureと定義)は $65.7 \pm 6.6\%$ であった。非血縁者間の骨髄および臍帯血移植は5年生存率が各々 $80.0 \pm 10.3\%$ 、 $80.0 \pm 9.0\%$ と同等であった。単変量解析による生存に関連する不良因子としてはHLA不一致血縁ドナー、移植時5歳以上、およびbusulfan (BU), cyclophosphamide (CY) もしくはBU-CYと抗胸腺細胞グロブリン (BU-CY-ATG) 以外の移植前処置があげられた。多変量解析において、BU-CYとBU-CY-ATG以外の前処置がfailureに関連している唯一の因子であった。以上のことから、本疾患においては非血縁ドナーからでも診断確定後早期に行うことが重要と考えられた。

A. 研究目的

Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) は血小板の減少およびサイズの減少、湿疹、および免疫不全症を伴う疾患で、Xp11.2のWASPの遺伝子における変異によって引き起こされる。本疾患に対しては造血幹細胞移植が施行され効果を上げているが、臍帯血移植に関する報告は本疾患においては

少ない。今回、本邦にて施行されたWAS 57例の後方視的解析をおこなった。

B. 研究方法

1985年1月から2004年12月の間に日本小児血液学会骨髄移植委員会に登録された57例について64回の造血幹細胞移植がなされた。移植時の年齢は

3カ月から19歳で、中央値は1.6歳であった。幹細胞ソースは、骨髄40例、末梢血2例、臍帯血15例であった。ドナーはHLA一致同胞8例、1座不一致同胞2例、HLA一致両親3例、1座不一致両親1例、2座不一致両親4例、3座不一致両親2例、1座不一致叔父1例、HLA一致非血縁者25例、1座不一致非血縁者10例、2座不一致非血縁者1例であった。1例においてCD34陽性細胞選択的移植が行われた。前処置はBU-CY-ATGが20例、BU-CYが13例であった。放射線を含んだ前処置は14例で行われた。GVHD予防はcyclosporin A (CsA)+short term MTXが28例、CsA単独が7例、CsA+methylprednisolone (mPSL) 5例、tacrolims+short term MTX 8例、MTXのみ4例、tacrolims+mPSL 3例、tacrolimsのみ1例であった。

C. 研究結果

造血幹細胞移植を施行した57例のうち9例が拒絶となり、このうち6例が再移植をおこなった。また1例において混合キメラのために再移植が行われた。14例が死亡しており、死因は感染症9例、

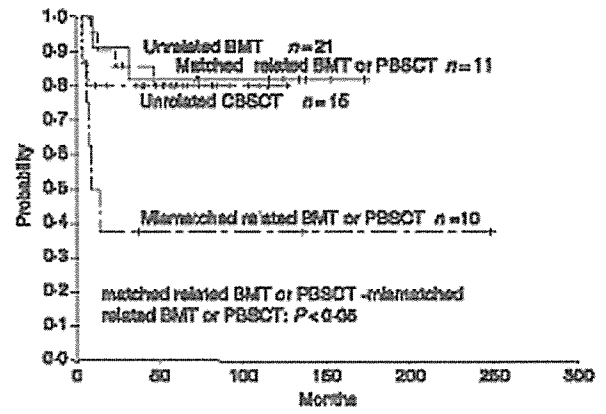


図1 ドナー別の移植後生存率

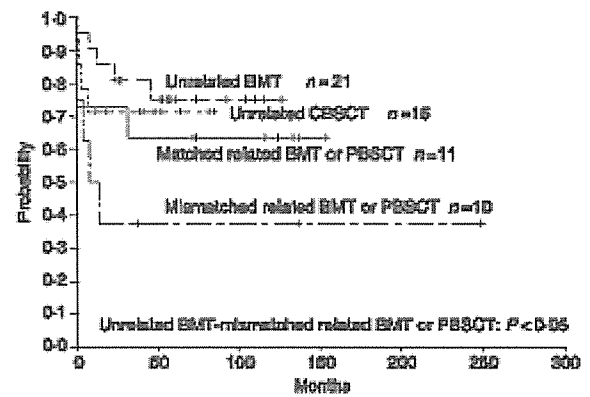


図2 ドナー別 failure free survival

表1 WASにて造血幹細胞移植を施行症例の5年生存率ならびにfailure free survival

	n	OS at 5 years(%)	FFS at 5years(%)
All Patients	57	73.7±6.1	65.7±6.6
Age			
<5years	41	79.8±6.4*	72.0±7.3
≥5years	13	53.8±13.8*	46.2±13.8
Source and donor			
Related matched BMT, PBSCT	11	81.8±11.6*	64.3±14.5
Related mismatched BMT, PBSCT	10	37.5±17.1* †	37.5±17.1*
Unrelated BMT	21	80.0±9.0 †	75.2±9.7*
Unrelated CBSCT	15	80.0±10.3	71.4±12.1
Conditioning regimen			
BU-CY and BU-CY-ATG	32	86.9±6.1*	83.8±6.7*
Other	23	55.8±10.5*	40.4±10.6*
Year of transplantation			
Till 1999	30	73.3±8.1	60.0±8.9
2000 and after	25	74.1±9.2	72.9±9.6

BU, busulfan; CY, cyclophosphamide; ATG, antithymocyte globulin; OS, overall survival; FFS, failure-free survival; CBSCT, cord blood stem cell transplantation;

BMT, bone marrow transplantation; PBSCT, peripheral blood stem cell transplantation.

* † P<0.05

表2 WAS 移植症例における多変量解析による failure に関わる因子

Factor	RR of failure	P	CI
Conditioning (except BU-CY and BU-CY-ATG)	7.455	0.003	1.996-27.834
Age (≥ 5 years)	2.410	0.243	0.550-10.559
Donor (mismatched related donor)	1.774	0.516	0.315-9.994

GVHD 3例、出血1例、thrombotic microangiopathy 1例であった。急性GVHD (>grade II) は36.8%の患者に発現した (HLA一致血縁者27.3%、HLA不一致血縁者40.0%、非血縁者間BMT 33.3%、非血縁者間CBSCT 46.7%)。慢性GVHD40.4%の患者に発現した (HLA一致血縁者36.4%、HLA不一致血縁者60.0%、非血縁者間BMT 47.6%、非血縁者間CBSCT 33.3%)。5年生存率は73.7 \pm 6.1%で5年 failure free survival (FFS, 死亡・拒絶・2次癌を failure と定義) は65.7 \pm 6.6%であった (表1)。生存率とFFSに関わる因子の解析ではHLA不一致血縁ドナーからの移植、移植時5歳以上ならびにBU-CY、BU-CY-ATG以外の前処置が不良因子としてあげられた。非血縁ドナーからの骨髄および臍帯血移植の5年生存率はそれぞれ80.0 \pm 10.3%、それぞれ80.0 \pm 9.0%と差を認めなかった (図1, 2)。

多変量解析による failure に関わる因子の検討では、BU-CY、BU-CY-ATG以外の前処置が唯一の因子であることがわかった (表2)。

D. 考 察

今回の本邦における解析でHLA一致血縁者間の移植では5年生存率が81.8%、5年FFSが64.3%という結果であった。その一方で非血縁者間のBMTおよびCBSCTが共に5年生存率80.0%と遜色ない結果であったことは驚くべき数字であった。その一方でHLA不一致血縁者間移植の成績の悪さが際だっていた。臍帯血移植は、多くの非腫瘍

性疾患で拒絶が多いことが知られているが、本疾患においてはそれが該当しないことが示された。また、移植時5歳以上の症例が予後不良であることも明らかとなった。これは年齢と共に感染や出血の危険性が増すことが原因とも考えられ、診断が確定した後には早期に移植を行うことが肝要と考えられた。特に臍帯血移植は登録から移植までの期間が短いという特徴があるために特に有用と考えられた。今回の解析ではBU-CYもしくはBU-CY-ATGが予後により影響を及ぼすとの結果となった。最近、後遺症を懸念して前処置の強度を減弱させた reduced intensity conditioning (RIST) が行われるようになってきている。しかし、今回の解析で fludarabine を含んだ前処置を施行していたのは数例のみで、しかも再移植の前処置として用いられているものが多かった。このため WAS に対する RIST の有効性は今後の症例の蓄積に期待することとなった。WAS の患者においては HLA 一致同胞がいる場合はもちろん、いない場合にも骨髄もしくは臍帯血バンクを通じて診断後早期に造血幹細胞移植を行うべきと考えられた。

F. 文 献

Kobayashi R, Ariga T, Nonoyama S, et al: Outcome in patients with Wiskott Aldrich syndrome following stem cell transplantation: an analysis of 57 patients in Japan. Br J Hematol 135: 362-366, 2006.

日本における重症複合免疫不全症に対する造血幹細胞移植の後方視的検討と治療ガイドラインの策定

今井耕輔	(防衛医科大学校医学研究科小児科学)
辻陽一郎	(防衛医科大学校医学研究科小児科学)
子川和宏	(防衛医科大学校医学研究科小児科学)
野々山恵章	(防衛医科大学校医学研究科小児科学)
有賀正	(北海道大学大学院医学研究科病態制御学専攻生殖・発達講座小児科学分野)
久間木悟	(東北大学大学院医学系研究科発生・発達医学講座小児病態学分野)
土屋滋	(東北大学大学院医学系研究科発生・発達医学講座小児病態学分野)
森尾友宏	(東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・発達病態小児科学分野、同・医学部附属病院・細胞治療センター)
蒲池吉朗	(名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻 発達・加齢医学講座 小児科学)
上松一永	(信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症)
高田英俊	(九州大学大学院医学研究院成長発達医学)
金兼弘和	(富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)
宮脇利男	(富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)

【研究要旨】

重症複合免疫不全症（SCID）に対する造血幹細胞移植（HSCT）の治療成績を明らかにする目的で、全国の小児科を対象にしてアンケート調査を行った。143例がSCIDと診断され、100例が移植されていた。そのうち解析可能な61例の初回移植例を対象とした。その結果、HLA一致家族間移植例は13症例あり、全例生存していること、非血縁臍帯血移植は18例あり、5年生存率が約80%に達しており代替ドナーとして適していること、HLA不一致血縁ドナー移植の中長期的予後が不良であることが示された。また、非血縁臍帯血移植では、IVIg不要となった9例のうち前処置を行なった例が8例であったが、IVIgを必要としている5例中4例が前処置を行っていない例であった。HLA一致同胞骨髄移植例では前処置なしの7例全例がIVIgを離脱できていた。

以上の結果をもとに、治療ガイドライン案を策定したので報告する。

A. 研究目的

SCIDは、T細胞新生障害によるまれな先天性の複合免疫不全症である。病型はB細胞とNK細胞のあるなしで分けられ、原因遺伝子は10種類以上になる。無治療では、感染症により乳児期に致死的であり、根治療法として造血幹細胞移植が行

われている。

ヨーロッパの大規模解析では、HLA一致移植が予後良好であること、不一致移植もCD34細胞移植になり予後が向上したことが報告されている。また、B-SCIDがB+SCIDに比べ予後不良であることが示されている。さらに、BUCYを前処置

としたガイドラインが作製されている。

アメリカではT細胞除去による母からの骨髄移植で良好な長期生存率が示されている。しかし半数以上でB細胞の生着が得られず、ガンマグロブリン補充療法の継続が必要となっている。

また、最近、イギリスより骨髄非破壊的前処置による移植例が報告され、良好な生存率が得られている。

こうした諸外国の報告はあるものの、日本での治療の現状と成績は解析されていない。日本の現状を把握し、それに基づいたガイドラインを検討する必要があると考えられる。

班会議事務局から1次アンケートを行ない、100例の移植例が報告された。そこで、今回は2次アンケートを行い、結果が得られた初回移植61例について解析を行なった。

B. 研究方法

厚労省研究班会議事務局から全国の小児科標榜施設（559施設）へ一次アンケートを送付した。回答は342施設（61.2%）から得られた。SCID診断例は143例あった。そのうち移植例は19施設で100例（69.9%）あった。移植例に対し、2次アンケートを行った。解析対象は初回移植61例とし、再移植8例は今回の解析から外した。移植日は1981年から2005年の25年間であった。

アンケートの結果をもとにして、病型による予後の差はあるか、ドナーによる予後の差はあるか、前処置は必要か、といった点を中心に解析を行った。

C. 研究結果

SCIDの病型では、45例がB+、13例がB-、3例がADA欠損症であった。52例が男児で、母親のT細胞生着例が6例、NK細胞生着例がそのうち1例あった（図1）。

移植細胞は、骨髄が38、うち、同胞11、非血縁4、末梢血が5、非血縁臍帯血が18例であった。HLAは一致21、1座不一致21、不一致19であった（図2）。

前処置は2/3で行われておらず、骨髄非破壊

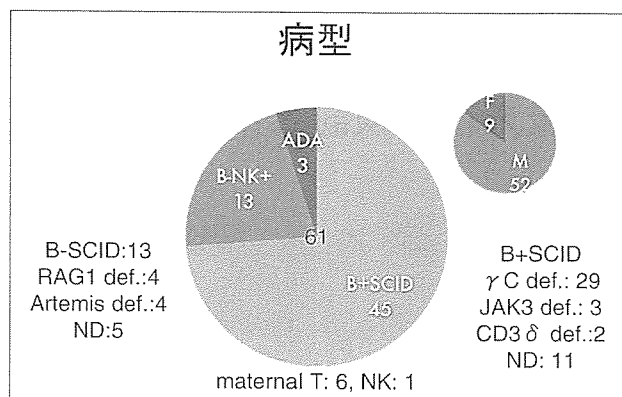


図1：移植を行ったSCIDの病型

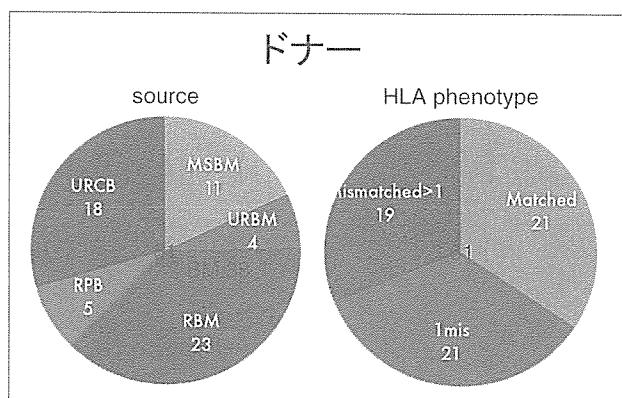


図2：ドナーの内訳

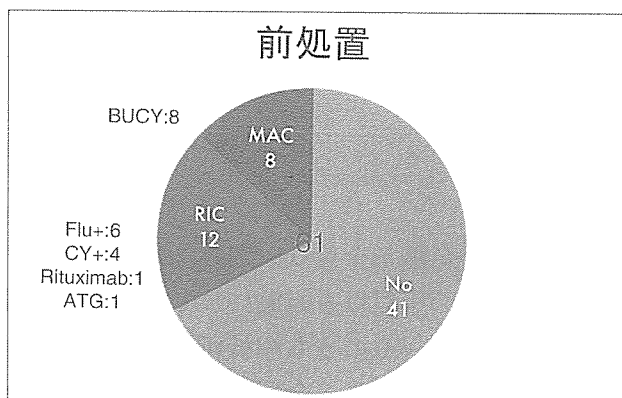


図3：前処置の内訳

的前処置が12例、BUCYが8例であった。（図3）

全体の生存率は、5年、10年で70%前後であり、諸外国と比べ遜色ない結果であった。死亡例を検討してみると、移植時にCMV感染を抱えていた例は7例全例が死亡していた。また、移植時に合併症を抱えた例は26例で、合併症があった場合、その予後は有意に不良となっていた。一方、B細胞の有無により分けた病型による予後の差はなかった（図4）。

ドナーによる生存率の差を検討したところ、HLA一致家族間移植は13症例あり、全例生存して

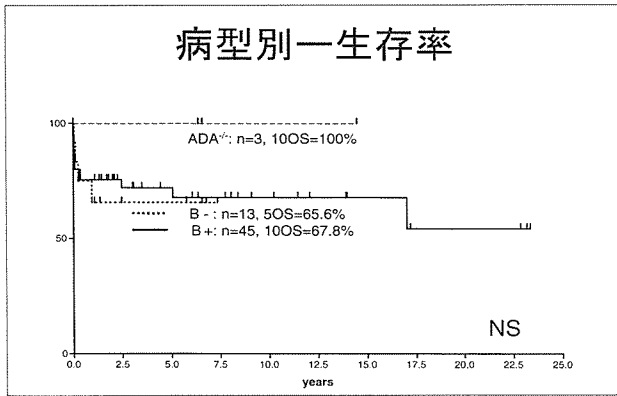


図4：病型別生存率

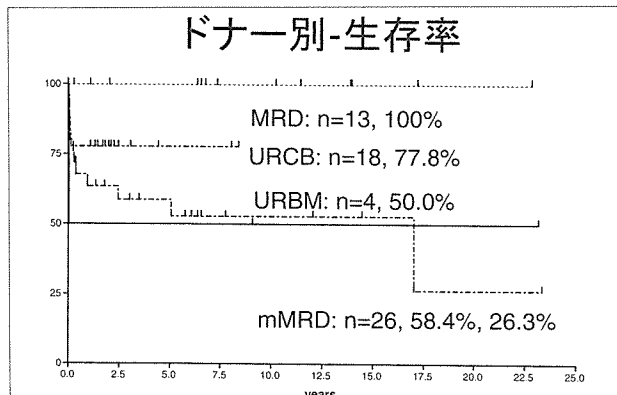


図5：ドナー別生存率

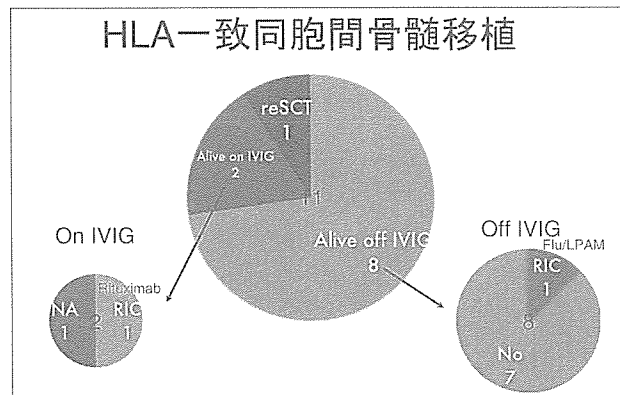


図6：HLA一致同胞骨髄移植の成績

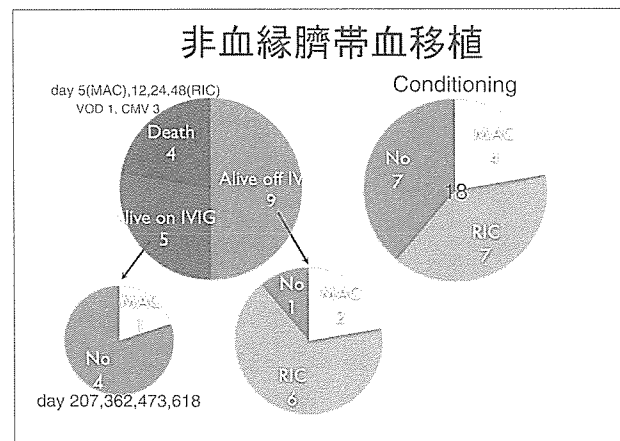


図7：非血縁臍帯血移植の成績

いた。一方、HLA不一致血縁ドナー移植の中長期的予後は、20年で生存率が26.3%と不良であった。非血縁臍帯血移植 (URCBT) は、5年生存率が約80%と良好な成績であり、不一致血縁ドナーと比べると、より代替ドナーとして適していると考えられた (図5)。

移植後のIVIGからの離脱に関しては、同胞間骨髄移植では、前処置を行なわなかった7例全例が生着生存IVIG不要となっていた (図6)。非血縁臍帯血移植では、IVIG不要となった9例のうち前処置を行なった例が8例であった。一方、IVIGを必要としている5例中4例が前処置を行っていない例であり、非血縁臍帯血移植ではIVIGを離脱するためには骨髄非破壊の前処置による前処置が必要と考えられた (図7)。

HLAミスマッチ移植時の細胞処理による予後の差を見た。Eロゼット、モノクローナル抗体などによる方法をCD34陽性細胞移植に変えても、若干良いようであるが、有意差はなかった (data not shown)。

3ヶ月未満の移植は8例に行なわれ、全例生存していた。前処置はエンドキサン単独が1例、リツキサン単独が1例で、最終的に6例がIVIGを必要としていた (data not shown)。

GVHDについては、重症例はごく少数であったが、ハプロ移植の2例は死亡していた。また、extensive chronic GVHDの半分は死亡か再移植となっていた (data not shown)。

D. 考察

今回の解析では、SCIDの病型による予後の差はなかった。ドナーについては、血縁CD34陽性細胞移植よりも、非血縁臍帯血移植が推奨されることが考えられた。また、移植時CMV感染例は予後不良であるため、できるだけ良くした上で移植に入ることが望ましい。生着には、HLA一致同胞骨髄移植であれば前処置は不要のようであるが、非血縁臍帯血移植にはB細胞の生着のために必要と考えられた。また、低月齢児で、前処置を行なった例は少なく、今後の課題であると考えられた。GVHDについては、通常の方法で構わないと

考えられた。

以上の結果より暫定的にガイドラインを策定した。対象はSCIDの全病型である。HLA一致同胞の場合、前処置なしで移植可能である。HLA一致同胞がない場合、非血縁臍帯血が推奨される。前処置はヨーロッパのガイドラインよりも強度を下げた、Flu125mg/m²、L-PAM80mg/m²を推奨する。母親のT/NK細胞が生着している例でも同様の前処置を行なう。活動性感染症がある場合はできるだけ治療をしてからが望ましいが、感染症の治療が困難な場合は前処置なしで移植せざるを得ないと考えられる。3ヶ月未満で発見された場合は、前処置の毒性を考慮し、3ヶ月まで無菌管理を行ないつつ待つのが望ましいだろう。Omenn症候群では、今回の検討では症例数が少なかつたため結論は出せないが、現時点でevidenceのある骨髄破壊的前処置が勧められる。

E. 結 論

今回の検討で、日本におけるSCIDに対する移植の現状が明らかになった。HLA一致同胞骨髄の場合は前処置なしで移植可能であること、非血縁臍帯血移植が有効であるが、非破壊的前処置を行うことがIVIGからの離脱に有用であることが示された。今後、前方視的な研究が望まれる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

非定型的 Cryopyrin-associated periodic syndrome の一例

高 田 英 俊 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)

石 村 匡 崇 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)

大 賀 正 一 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)

楠 原 浩 一 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)

原 寿 郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)

【研究要旨】

発熱と発疹を主症状とし、全身型若年性特発性関節炎様の臨床像を呈した11カ月の男児に関して、乳頭浮腫、慢性髄膜炎を呈していたことから Cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS) を疑い、CIAS1遺伝子を検討し遺伝子変異を確認した。さらにLPS刺激により患者末梢血単球の細胞死が誘導され、CAPSに特徴的な所見が得られたことから、非定型的CAPSと診断した。眼科的所見、皮膚生検所見、髄液所見などは重要な所見であると考えられ、さらにCIAS1遺伝子異常の有無を確認する事とともにLPS刺激による末梢血単球の細胞死誘導を検討することの重要性が示唆された。

A. 研究目的

近年 Cold-induced autoinflammatory syndrome 1 (CIAS1) 遺伝子の異常によって自己炎症性症候群の一つである Cryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS) が起こることが明らかとなっている。CAPSには以下の3病型が含まれる。

1. Familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS)

寒冷によって誘発される、間欠的な皮疹、発熱、関節痛を主症状とする常染色体優性遺伝性疾患。

2. Muckle-Wells syndrome (MWS)

周期的な発熱・蕁麻疹・関節炎・腹痛、及び進行性感音性難聴をきたす常染色体優性遺伝性疾患。

3. Neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID) (CINCA 症候群)

蕁麻疹様皮疹、中枢神経系病変、関節症状を主徴とし、常染色体優性遺伝形式をとる疾患で、これらの症状が生後すぐに出現し、生涯にわたり持続する慢性自己炎症性疾患。発熱、感音性

難聴、慢性髄膜炎、ブドウ膜炎、頭蓋骨の拡大、前頭部突出、大泉門閉鎖遅延、水頭症、骨幹部軟骨の異常による関節症状などの症状がみられる。

しかし、これまでこれらと臨床像の異なる非定型的なCAPSは確立されていない。今回、全身型若年性特発性関節炎 (sJIA) 様の症状を呈した症例のCIAS1遺伝子異常の有無を検討し、さらに患者末梢血の特徴について検討した。

B. 研究方法

患者末梢血よりcDNAおよびDNAを抽出し、CIAS1遺伝子の塩基配列を決定した。また、患者末梢血単核球を 1×10^6 /mlの濃度でLPS (10ng/ml) の存在下、非存在下で24時間培養した後、フローサイトメーターにてCD14陽性細胞の割合を検討した。

C. 研究結果

1. 患者の病歴と理学的所見

症例は11カ月男児。家族歴に特記すべき事なし。生後10カ月頃から発熱と全身の発疹が出現しその

後も持続。なお、出生時の血液検査では、白血球数 $20.0 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、CRP (-) であり、生後7日、白血球数 $20.1 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 、CRP (-) であった。

大泉門：3.5x4.7cm。全身に蕁麻疹様の皮疹を認め（図1左）、皮疹部位は時間経過とともに変化し、発熱時に増悪する傾向がみられた。髄膜刺激症状は認めなかった。眼科的所見として、両側乳頭浮腫をみとめたがぶどう膜炎の所見は認めなかった（図2左）。胸腹部所見に異常なく、外表奇形は認めなかった。

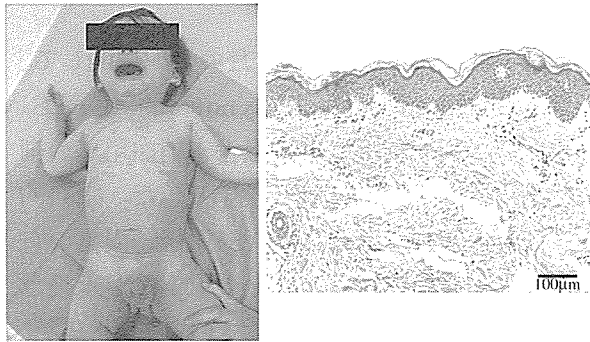


図1 皮膚所見

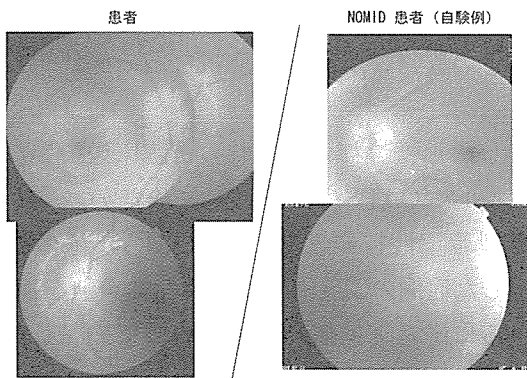


図2 眼底所見

2. 臨床検査成績と経過

表1に示すように、白血球数の増多、血清CRP値の上昇、赤沈の亢進など強い炎症所見が認められ、血清IL-1 β 、IL-6値の上昇を認めた。髄液液細胞数の増加、髄液中のIL-1 β 、IL-6値の上昇を認め、慢性髄膜炎があると考えられた。ABR上聴力は正常であった。皮膚生検では好中球を主体とした炎症細胞浸潤が表皮下と血管周囲を中心に認められた。

経過中、sJIA様の弛張熱を認め、白血球数増加やCRP値上昇などの炎症所見は持続し、ナブ

【CBC】	【血沈】	73 mm/hr	【髄液検査】
WBC 23,740 / μl	【免疫学的検査】		外観 透明
Neut 67.0%	IgG 824 mg/dl		細胞数 198 / μl
Ly 29.0%	IgA 42 mg/dl		多核白血球 80.8%
Eos 1.5%	IgM 120 mg/dl		単核球 19.2%
Hb 10.2 g/dl	C3 197 mg/dl		TP 42 mg/dl
Plt $553 \times 10^3 / \mu\text{l}$	C4 39 mg/dl		Gluc 48 mg/dl
【生化学検査】	CH-50 > 60 U/ml		IL-1 β 245.6 pg/ml
TP 7.4 g/dl	RF < 5 U/ml		IL-6 126.5 pg/ml
AST 24 U/l	IL-1 β 538.6 pg/ml	【頭部MRI】	異常なし
ALT 9 U/l	IL-6 27.3 pg/ml	【ABR】	両側正常
Fe 14 $\mu\text{g/dl}$	CD4/8 1.06	【骨シンチ】	異常なし
UIBC 391 $\mu\text{g/dl}$	CD3 55.6%	【Ga シンチ】	異常なし
Ferritin 43.2 ng/ml	CD19 21.2%		
CRP 10.47 mg/dl	CD3+HLADR* 4.1%		
MMP-3 22 ng/ml			

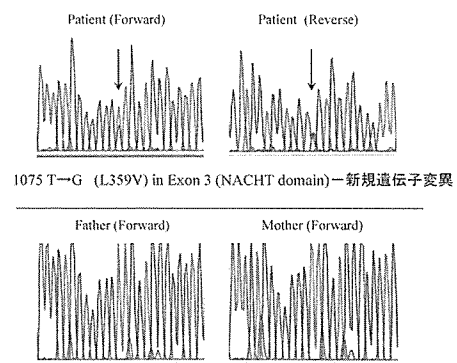
表1 検査所見

ロキセン投与後やや発熱が軽減したが、血液検査上の炎症所見は持続した。

sJIAに類似した臨床症状を呈しているが、慢性髄膜炎や乳頭浮腫があり、自己炎症性疾患、特にNOMIDに類似した所見も認められたことから、CAPSの可能性を考慮すべきであると考えた。

3. CIAS1遺伝子の解析結果

図3に示すように、この患者ではCIAS1遺伝子のExon 3にheterozygousな遺伝子変異を認めた。両親には、この遺伝子変異は認めなかった。これまでCAPS患者のCIAS1遺伝子変異は、ほぼ全ての例がExon 3に認められ、さらにその中のNACHT domainに集中していると報告されている。図4に示すようにこの遺伝子変異はCIAS1遺伝子のNACHT domainに相当する位置にあり、そのほぼ中央部に位置していた。この遺伝子変異が遺伝子多型でないことを確認するために、



1075 T→G (L359V) in Exon 3 (NACHT domain) - 新規遺伝子変異

図3 患者に見られた CIAS1 遺伝子異常

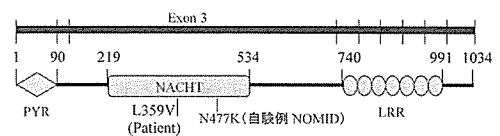


図4 患者に見られた CIAS1 遺伝子異常

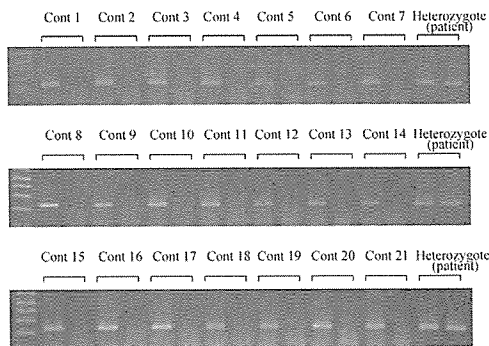


図5 1075 T→G の健常者での検討 (allele specific PCR)

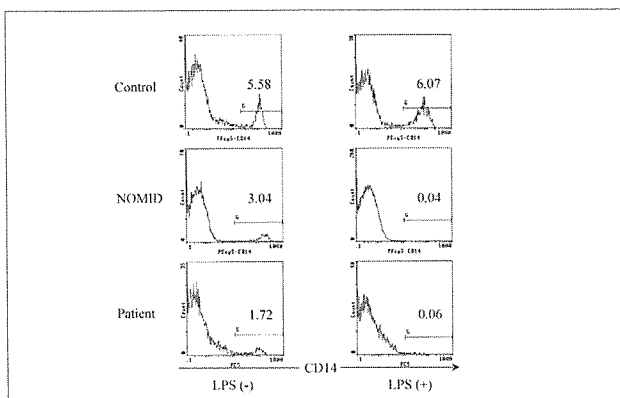


図6 LPS 刺激による単球細胞死の誘導

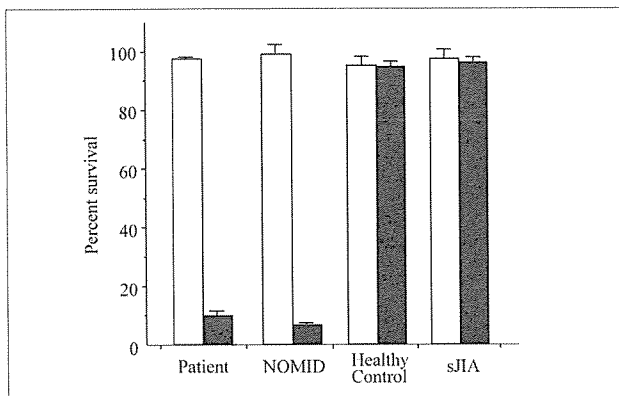


図7 LPS 刺激による単球細胞死の誘導

健常者100名を対象として、この遺伝子異常がないかどうかを Allele-specific PCR法で確認したところ、健常者には認められなかった (図5)。

4. LPS刺激による末梢血単球の細胞死の誘導

CAPS患者末梢血単球はLPS刺激によって細胞死が誘導されることが判明しているため、この患者末梢血単核球をLPSで24時間刺激した後、フローサイトメーターにて単球の割合を検討した結果、図6、7に示すようにほとんどの単球が消失しており、細胞死を起こしたと考えられた。この細胞死は、急性期治療前の全身型若年性特発性関節炎

患者末梢血単球には認められなかった。

以上の結果より、この患者はCAPSであると診断した。

D. 考 察

この患者は新生児期には無症状でありNOMIDの症状に乏しく、むしろsJIAに類似した臨床像とも言える。またFCASやMWSの臨床像とは全くことになっており、非定型的なCAPSである。これまで非定型的なCAPSとして、2歳時に関節痛で発症し5歳時に頭痛・吐気が起こり、しだいに関節炎の増悪や難聴、乳頭浮腫、髄膜炎、成長障害を呈した例が報告されている。この例では発熱や発疹は明らかではなく、CIAS1遺伝子の Exon 6の leucin-rich repeat に相当する部位に遺伝子異常が認められている。今回の症例では、発熱と発疹を主症状としsJIA様の臨床像を呈しており、sJIAと診断されている患者の一部はCAPSである可能性を示唆するものと考えられた。

E. 結 論

今回の症例では、眼科的所見、皮膚生検所見、髄液所見などからCAPSの診断につながったと考えられ、重要視しなければならない所見であると考えられ、さらにCIAS1遺伝子異常の有無を確認する事とともにLPS刺激による末梢血単球の細胞死誘導を検討することの重要性が示唆された。

参考文献

- Hoffman et al. Mutations of a new gene encoding a putative pyrin-like protein causes familial cold autoinflammatory syndrome and Muckle-Wells syndrome. *Nature Genet* 2001;29:301-5.
- Frenkel et al. Variant chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome due to a mutation within the leucine-rich repeat domain of CIAS1. *Arthritis Rheum* 2004;50:2719-20.

CINCA症候群における疾患関連変異CIAS1遺伝子による生物学的な特徴の解析

西小森 隆 太 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)

中 畑 龍 俊 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)

【研究要旨】

CINCA症候群は、慢性髄膜炎それに伴う中枢神経障害、epiphyseal overgrowth に代表される関節障害、生下時より認める蕁麻疹様発疹を特徴とする自己炎症症候群の1つである。現在のところ責任遺伝子としてCIAS1が同定されているが、これまでIL-1 β 過剰産生以外の疾患関連変異CIAS1の機能については明らかにされていなかった。今回疾患関連変異CIAS1遺伝子をヒト単球細胞株THP-1に導入することにより、ネクローシス様の細胞死が誘導されることを明らかにした。同現象はライソゾーム酵素であるカテプシンB依存性であり、ミトコンドリア膜電位の低下、lysosomal leakageを誘導する。同細胞死の誘導がIL-1RA治療不応性の病態形成に関わっていることが推測された。

A. 研究目的

CINCA症候群における病態形成において、CIAS1遺伝子の異常がインフラモソームを介して、IL-1 β の制御異常において過剰産生されることが主病態と考えられている。IL-1 β を中和するIL-1RAを投与することにより、CINCA症候群の炎症所見は改善することが知られている。しかし一方IL-1RA投与を行った症例でも、関節症状が進行し、IL-1RAの投与不足、もしくは他の病態形成機序が推測されていた。今回、異常CIAS1遺伝子の生物学的特徴を解析する目的で、CIAS1が最も発現している単球系の細胞株に疾患関連CIAS1変異遺伝子を強制発現させ、どのような生物学的な現象がおこるか観察した。

B. 研究方法

疾患関連変異CIAS1遺伝子を過剰発現するベクターを作成、エレクトロポレーションによりヒト単球THP-1細胞に導入した。アポトーシスの有無の解析は7-AAD/Annexin Vにてフローサイトメトリーを用いて行い、形態学的な評価としてギムザ染色、電顕を用いた。各種阻害剤として、各カスパーゼに対する阻害剤、カテプシンB阻害

剤を使用した。ミトコンドリア膜電位はMito Tracker DeepRed 633、lysosomal leakageはacridine orangeを用いて行った。

(倫理面への配慮)

当院倫理委員会の承認をうけた遺伝子検査の承諾書にてinformed consentを得て、患者異常CIAS1遺伝子解析を行った。

C. 研究結果

ヒト単球細胞株にCINCA症候群で同定されるCIAS1異常遺伝子(R260W, D303N, Y570C)をエレクトロポレーションにて導入、コントロールとして正常CIAS1遺伝子(WT)を用いた。WTCIAS1では細胞死の誘導はなかったが、疾患関連変異CIAS1ではいずれも細胞死が誘導された(図1)。同細胞死は、遺伝子導入後3時間という比較的短時間でおこり、Annexin Vの検討では典型的なアポトーシス細胞はなく、また形態学的にもネクローシス様の細胞死であった。またCIAS1遺伝子異常にはgenotype-phenotype関連があるが、より重症型の遺伝子異常(Y570C)がより軽症型の遺伝子異常(R260W)より、より強

く細胞死を誘導することが分かった (図1)。

続いて各種阻害剤を用い、細胞死のメカニズムをしらべたところ、パンカスペーゼ阻害剤、各特異的カスペーゼ阻害剤 (Caspase-1,3,8,9) では部分的に阻害されることが分かった (図2)。これらの阻害剤がカテプシンB阻害活性を持つことが知られており、カテプシンB特異的阻害剤であるCA-074-Meを用いたところ、より有効に細胞死を阻害することが分かり、同細胞死はカテプシンB依存性の細胞死であることが分かった (図2)。

同細胞死はまた、lysosomal leakage が認められ、ミトコンドリア膜電位の低下も認めた (図3, 4)。Lysosomal leakage 及びミトコンドリア膜電位の変化はいずれもCA-074-Meにて阻害され、カテプシンB活性化がより上位に存在し、その阻害が細胞死カスケードを止めることが分かった。

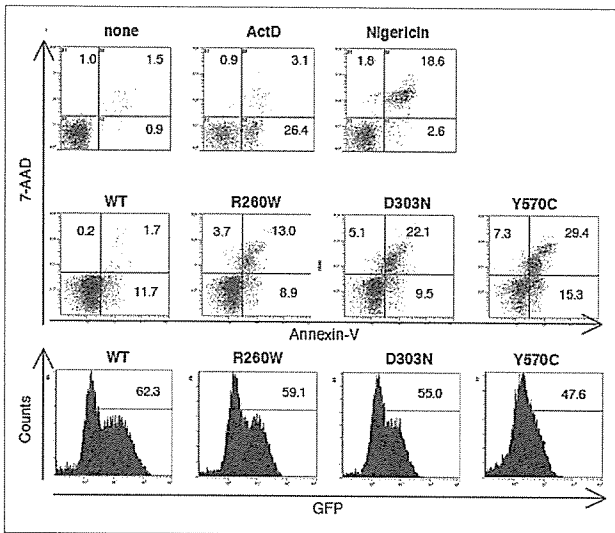


図1

CINCA症候群疾患関連変異CIAS1遺伝子はTHP-1細胞株に細胞死を誘導する。GFP陽性細胞でゲートした細胞を示す。Y570C>D303N>R260W>>WTでTHP-1細胞に細胞死を誘導する。

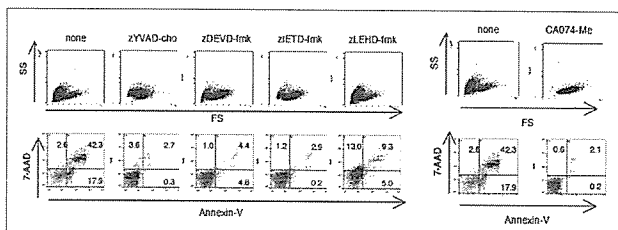


図2

疾患関連変異CIAS1遺伝子による細胞死はカテプシンB阻害剤で抑制がかかる。zYVAD-cho (caspase-1)、zDEVD-fmk (caspase-3)、zIETD-fmk (caspase-8)、zLEHD-fmk (caspase-9)、CA-074-Me (cathepsin B)前処理した細胞での疾患関連変異CIAS1遺伝子誘導細胞死を示す。カテプシンB阻害剤で最も有効に細胞死の抑制がかかる。

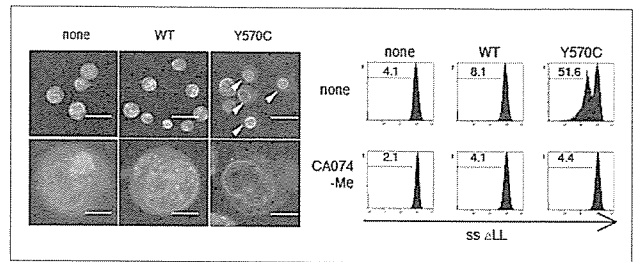


図3

疾患関連変異CIAS1遺伝子でおこるlysosomal leakage (ssΔLL)。右パネルはacridine orangeにてライソゾームを検出している。Y570Cではlysosomal leakageが観察される。左パネルでは、同データをフローサイトメトリーにて示した。CA-074-Meにてlysosomal leakageの抑制がかかる。

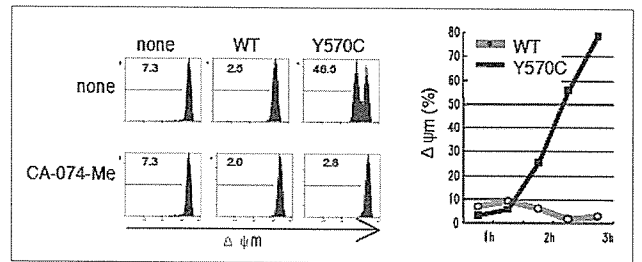


図4

疾患関連変異CIAS1遺伝子はミトコンドリア膜電位の低下を引き起こす。左パネルはミトコンドリア膜電位をフローサイトメトリーにて示した。Y570Cにてミトコンドリア膜電位の低下を認め、CA-074-Meにて抑制がかかる。右パネルは時間経過をしめす。

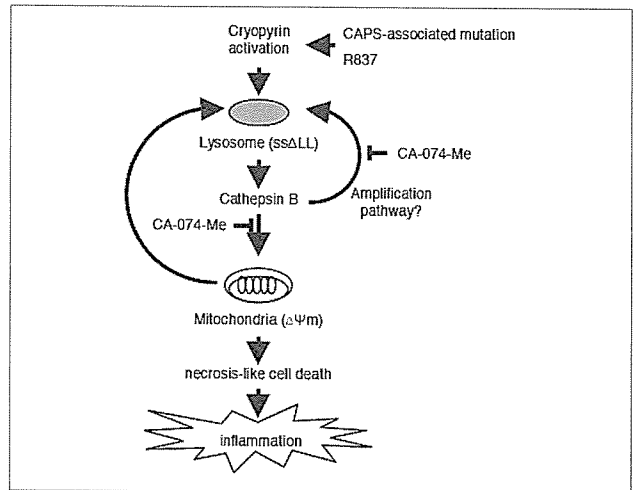


図5

疾患関連変異CIAS1遺伝子による細胞死のメカニズム (仮説)

D. 考 察

疾患関連変異CIAS1遺伝子導入により、ヒト単球細胞株THP-1が細胞死に到ることが判明した。疾患関連変異CIAS1遺伝子の新規生物学的性質がCINCA症候群における病態形成に関わっているかは現在の所不明である。しかし疾患関連変異CIAS1のもう一つの特徴である過剰IL-1β産生をIL-1RAにて治療して