

B. 研究方法

1. IgGサブクラスは主にELISAで検出した。
2. 広範囲の重鎖免疫グロブリン遺伝子の欠損は、サザンブロット解析で調べた。
3. 細胞表面の免疫グロブリン遺伝子は、フローサイトメーターで検出した。
4. germlineおよびmature免疫グロブリン遺伝子の発現をRT-PCRで調べた。
5. in vitro免疫グロブリン産生は、単核球および精製B細胞を刺激して、ELISAで検出した。
6. IgG1免疫グロブリン遺伝子の塩基配列をゲノムのシーケンスで検討した。
7. 膜IgG1機能の解析は、固層化抗IgG1抗体を用いた刺激による、B細胞凝縮形態および増殖で検討した。

C. 研究結果

臨床所見：成人女性。大学生の頃から風邪を引きやすくなり、近医受診、IgGの低値を指摘された。その後、IgGサブクラス解析で、IgG1欠損が判明した。重症感染はなく、その後は易感染性は認めていない。

1. 数年間に6回IgGサブクラスをELISAで測定したが、いずれも検出感度以下であった。また、ネフロメーター法による測定でも検出感度以下であった。
2. 患者ゲノムのサザンブロット解析では異常はなく、重鎖免疫グロブリン遺伝子の $\gamma 1$ 付近の欠損はないと判断した。
3. 抗ヒトIgG, IgG1, IgG2抗体を用いた解析では、コントロールと同程度に、患者B細胞上にIgG, IgG1, IgG2が検出された。
4. $\gamma 1$ および $\gamma 2$ のgermlineとmatureのmRNA発現は正常に認められた。
5. B細胞IgGサブクラス産生は、コントロールと比較して、IgG1, IgG2, IgG3およびIgG4はいずれも患者では正常に産生されていた。
6. $\gamma 1$ 遺伝子塩基配列は、分泌型の最後のストップコドンにpoint mutationがあり、その結果、ストップコドンがアミノ酸に置き換わり、IgG1抗体の末端にアミノ酸が付着していることが判

明した。まく部分を構成するM1およびM2遺伝子には異常は見られなかった。

7. 種々の刺激下で、抗IgG1抗体刺激は、コントロールB細胞と同様に、B細胞の活性化ならびに増殖を促した。

D. 考察

本例は、乳児期からIgG1欠損が存在していたものと思われる。しかしながら、論文報告でも散見されるように、IgG1欠損は比較的感染の程度は軽い傾向がある。こうした所見は、肺炎球菌などの感染症を反復するIgG2欠損症と異なる。本例においても、20歳頃に一時的な風邪症状の反復を認めたものの現在では全く易感染性はみられない。その後生まれた男児においても母親からのIgG1移行抗体はみられず、年齢に伴い上昇し正常化した。その間感染症は回避できた。総IgGの70%を占めるIgG1が欠損しても、感染防御においてあまり問題とならない点は興味深い。

血清中に全くIgG1が存在せず、B細胞表面にはIgG1が正常に存在する点が本症の病態を解明する上で重要である。この問題点を解く糸口として、IgG1とIgEの膜結合部分を破壊したマウスの解析が参考になる(2, 3)。この欠損マウスにおいては、血中分泌型IgG1およびIgEは著減しており、細胞質内のM2部分の欠損では表面に免疫グロブリン受容体が認められる。この所見からIgG1膜結合受容体の細胞質部分、IgG1M2の異常が強く示唆された。しかしながら、塩基配列をみたところこの部分に異常はなく膜受容体は正常と判明した。機能解析においても、クロスリンクした抗IgG1抗体刺激によってB細胞凝集や各刺激下で軽度の増殖増加を認めるため、IgG1受容体に異常はないと考えられた。

膜結合受容体の異常によって免疫グロブリンが血中に認めないhuman例については、岐阜大学のIgG2欠損症が詳細に解析されている。IgG2膜結合受容体がないこの例においては、血中IgG2は完全に欠損している。しかしながら、in vitroでは、マウスIgE膜部分の異常でも、刺激によってIgEの産生は認められているため、in vitroで

は産生される可能性が高い。おそらく免疫グロブリン膜受容体からのシグナルが入らないと、in vivoにおいては免疫グロブリン産生がおきかないものと推測される。

本例においては、in vitroにおいて、各刺激によるIgG1産生は正常にみられ、mature g1も検出されたことから、in vitro B細胞IgG1産生は正常と判断した。しかし、分泌型のIgG1テイルにアミノ酸の付着があるため、本例では血中にIgG1が存在しないと考えられるが、なぜin vitroでは検出されるのかは疑問である。可能性としては、①異常分泌型IgG1がin vivoではB細胞の膜は通過しないが、in vitroの強刺激では通過する可能性、②異常分泌型IgG1がin vivoにおいて、細胞内あるいは細胞外ですぐに壊されてしまう可能性などがある。現在、この異常mutantを作成し、細胞株に移入して、細胞外への出方や細胞内での壊れ方を検討している。これらの解析によって本例の病態をさらに明らかにしたい。

E. 結 論

膜IgG1受容体が正常で分泌型IgG1が欠損する新たな抗体不全症を報告した。抗体不全症でこうした異常を呈した場合は分泌型のテイルの解析が必要である。

参考文献

1. Tashita, H., Fukao, T., Kaneko, H., Teramoto, T., Inoue, R., Kasahara, K., Kondo, N. Molecular basis of selective IgG2 deficiency. The mutated membrane-bound form of $\gamma 2$ heavy chain caused complete IgG2 deficiency in two Japanese siblings. *J Clin. Invest.* 101:677-81, 1998.
2. Zhao, Y., Pan-Hammarstrom, Q., Zhao, Z., Wen, S., Hammarstrom, L. Selective IgG2 deficiency due to a point mutation causing abnormal splicing of the C $\gamma 2$ gene. *Int. Immunol.* 17:95-101, 2005.
3. Kaisho, T., Schwenk, F., Rajewsky, K. The roles of $\gamma 1$ heavy chain membrane

expression and cytoplasmic tail in IgG1 responses. *Science* 276:412-5, 1997.

4. Achatz, G., Nitschke, L., Lamers, M. C. Effect of transmembrane and cytoplasmic domains of IgE on the IgE response. *Science* 276:409-11, 1997.

抗体産生不全症におけるBAFF, APRILの発現

金子 英雄 (岐阜大学大学院医学系研究科地域医療医学センター)
金 栄 (岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学)
近藤 直実 (岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学)
深尾 敏幸 (岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科)

研究要旨

近年、CVID (common variable immunodeficiency)、IgA欠損症の病因としてTACI (transmembrane activator and calcium-modulator and cytophilin ligand interactor) 遺伝子異常が報告された。そこで、CVID, IgA欠損症の病態をさらに、明らかにするため、TACIを含めたTNF- α ファミリーの発現を検討した。今回、対象とした症例ではCVID, 選択的IgA欠損症、低IgA血症ともにTACI, BAFF-R, APRIL, BAFFの遺伝子に病因となる変異は存在しなかった。健康人につき、年齢と血漿中のBAFF, APRILの発現を検討したところ、加齢に伴いBAFF, APRIL発現はともに減少しており、年齢と負の相関を示した。IgA低下症、CVID, X-linked agammaglobulinemiaでは、血漿中のBAFF, APRILの発現が増加している傾向が認められ、これは抗体産生不全症にかかわる、共通の病態を反映している可能性が示唆された。

A. 研究の目的

2005年にCVID (common variable immunodeficiency) とIgA欠損症の一部がTNF receptor familyに属するTACI (transmembrane activator and calcium-modulator and cytophilin ligand interactor) 遺伝子変異によることが報告された。そこで、CVID、IgA欠損症においてTACI、BAFFR (B cell activating factor of the tumor necrosis factor family receptor)等のTNF receptor familyとそのリガンドAPRIL (a proliferation-inducing ligand)、BAFFに関して遺伝子解析を行った。さらに、CVID、IgA欠損症の病態の解明をめざして、BAFF、APRILの発現につき解析した。いくつかのサイトカインの発現は加齢に伴い変化することが知られているので、まず、健康人のBAFF、APRILの発現に関して、年齢との関係を解析した。さらに、IgA欠損症、CVID、X-linked agammaglobulinemia (XLA) におけるBAFF、APRILの発現を健康人と比較した。

B. 研究方法

対象としたIgA欠損症 (11人) (3人は血清IgAが検出感度以下の完全欠損、8人は年齢の正常下限の-2SD以下の部分欠損)。CVID (3人)の末梢血好中球よりDNAを抽出しcoding領域の全exonにプライマーを設定し、PCRをおこない、塩基配列を決定した。血漿中のBAFF、APRILはELISA法にて測定した。また、末梢血単核球細胞からmRNAを抽出した。BAFF、APRILの遺伝子発現はreal-time PCR法を用い半定量化した (Roche GmbH, Mannheim, Germany)。GAPDHとの比較により、相対的な発現量を計算した。

C. 研究結果

遺伝子解析の結果、APRIL遺伝子にG67R, N96Sという多型をみいだしたが、健康人でも、この多型はほぼ同様な頻度で存在した。TACIではP251Lという多型をみいだしたが、これも健康人にほぼ、同様な頻度で存在した。以上より、今回対象とした症例はAPRIL, BAFF, TACI,

BAFF-Rに病因となる遺伝子変異は存在しないと考えられた。

次に、抗体産生不全症におけるBAFF, APRILの発現につき、検討した。まず、健常人における血漿中のBAFF, APRILの発現を年齢との関係から比較した。血漿中のBAFF, APRILとも、年齢と逆相関を示した (BAFF $p=0.004$, APRIL $p=0.001$) (図1)。

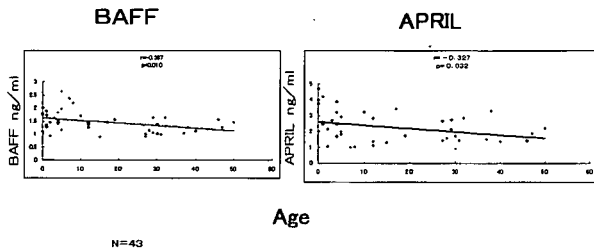


図1 BAFF, APRILの血漿中の発現量は年齢と逆相関する

BAFF, APRILの遺伝子発現に関しても年齢と逆相関が認められるか、real-time PCRにて解析したが、遺伝子発現に関しては有意な逆相関は認められなかった。

次にIgA欠損症、CVID, XLAにおけるBAFF, APRILの発現を検討した。IgA欠損症、CVID, XLAの血漿中のBAFF, APRILは健常人に比較し有意に高値を示した (図2)。BAFFの平均値は健常人:1.59ng/ml, IgA欠損症:1.92ng/ml, CVID:15.59ng/ml, XLA:15.59ng/ml. APRILの平均値は健常人:2.46ng/ml, IgA欠損症:5.20ng/ml, CVID:47.39ng/ml, XLA:55.59ng/ml.

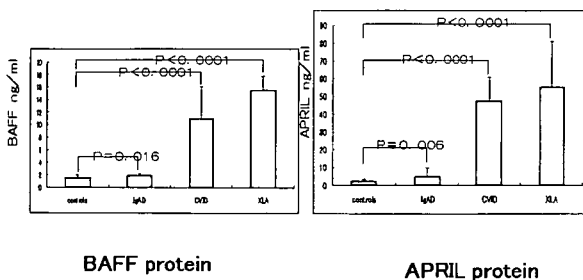


図2 IgAD, CVID, XLAの血漿中のBAFF, APRILタンパクの発現は健常人に比較して増加している

遺伝子の発現つき検討したところBAFFに関しては、XLA患者で、APRILに関してはCVIDとXLAにおいて有意に健常人より高発現を示した (図3)。

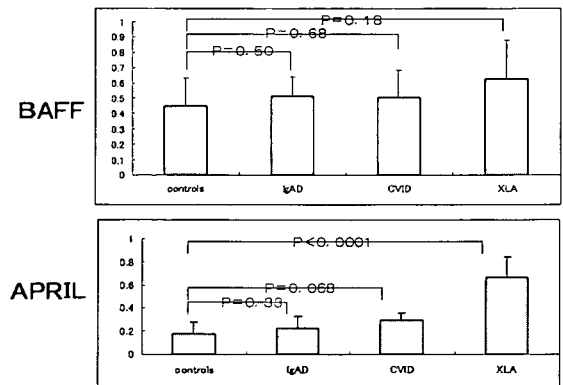


図3 IgAD, CVID, XLAのBAFFとAPRIL mRNAの発現は健常人と比較して高い傾向が認められる

D. 考 察

IgA欠損症とCVIDにTACI遺伝子異常が2005年に報告されたが、その後の報告は散見されるのみであり、TACI遺伝子変異が病因のIgA欠損症はそれほど多くないと考えられる。私たちが対象とした症例でもTACIを含めたTNF- α familyの遺伝子変異は検出できなかった。

私たちは、本研究で、抗体産生不全症 (IgA欠損症, CVID, XLA) の血漿中のBAFF, APRILタンパクが増加していることを示した。このことは、BAFF, APRILが抗体産生不全症の共通の病態に関与している可能性を示唆する。マウスの系においては、BAFFは末梢のB細胞のプールを決定すると考えられており、ヒトでも末梢のB細胞が減少している場合に、それを増加させるため、BAFFの産生が誘導されている可能性も考えられる。もう一つの可能性としては、抗体産生不全症において、感染などの炎症が繰り返されると、産生細胞である単球等が活性化しBAFFの産生が誘導されることも考えられる。

E. 結 論

IgADとCVIDの病態を明らかにするため、TNF familyに属するAPRIL, BAFFの発現につき検討した。BAFF, APRILの発現は年齢と逆相関を示した。さらに、抗体産生不全症 (IgA欠損症, CVID, XLA) においてBAFF, APRILの発現は亢進していた。これは抗体産生不全症にかかわる、共通の病態を反映している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

Jin R, Kaneko H, Suzuki H, Arai T, Teramoto T, Fukao T, Kondo N.

Age-related changes in BAFF and APRIL profiles and upregulation of BAFF and APRIL expression in patients with primary antibody deficiency.

Int J Mol Med in press

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

SNP chipを用いた全ゲノム検索によるCVID原因遺伝子を含む ホモ接合領域の同定

中 川 紀 子 (防衛医科大学校小児科)
辻 陽 一 郎 (防衛医科大学校小児科)
子 川 和 宏 (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)
今 井 耕 輔 (防衛医科大学校小児科・医療情報部)
野 口 恵美子 (筑波大学校遺伝医学分野)
有 波 忠 雄 (筑波大学校遺伝医学分野)

研究要旨

CVID (common variable immunodeficiency) の原因遺伝子を同定する目的で、SNP chip assayを行った。

症例は9歳より γ グロブリン補充中のCVIDの男性。麻疹3回、带状疱疹2回、肺炎数回に罹患。24歳時に自己免疫性溶血性貧血、黄疸にて当科紹介受診。進行する貧血(最低Hb 4.7g/dl)に対し、ステロイドにて治療し改善を認めたが、リンパ球減少、PHAに対する増殖反応低下、ナイーブT細胞の減少、TRECの低下、メモリーB細胞の減少を認めた。また、AIHAは抗CD20抗体投与に抵抗性であった。

6親等の血族婚家系であり、SNP chipにて、ホモ接合部を4ヶ所(2q13-2q14.3, 5q11.2-5q13.2, 7pter-p22.1, 8q24.11-24.21)同定した。遺伝子としては300遺伝子以上を含んでおり、候補遺伝子解析を組み合わせた解析を行っているが、今後症例の蓄積により、CVIDの原因遺伝子同定につながる可能性が考えられる。

A. 研究の目的

CVID (common variable immunodeficiency) は低 γ グロブリン血症と反復する細菌感染症を主徴とする免疫不全症で、原発性免疫不全症の中では、約1/25,000-1/100,000の頻度で認められ、もっとも多い疾患である。繰り返す細菌感染症は、特に気道、腸管に多く見られる。低 γ グロブリン血症は、IgM<100mg/dl, IgG低値, IgA低値である。B細胞数は2%以上のことが多く、進行性に減少する症例もある。その他、B細胞、T細胞、NK細胞に種々のリンパ球異常を示す。発症年齢は、6-10才と26-40才にピークがある。

合併症としては、自己免疫疾患(20%)、自己免疫性溶血性貧血(AIHA)、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、関節炎、炎症性腸疾患等がある。

リンパ組織の増大を認めることがあり、脾腫、リンパ節腫脹、肝腫大、扁桃腫大、腸管パイエル板腫大などが報告されている。悪性腫瘍、特に悪性リンパ腫等の発生が多いことも知られている。

遺伝形式としては、散発例(約85%)、家族例(約15%)がある。常染色体優性型(AD遺伝形式、家系内にIgA欠損例がある例が約80%ある)は全体の約10%になる。常染色体劣性型(AR遺伝形式)は約20%であり、CVID全体の約3%と報告されている。

責任遺伝子としては、他の免疫不全症の非典型例として、*SH2D1A*(XLP)、*CD40LG*(XHIGM1)、*Btk*(XLA)がある。CVIDの原因遺伝子としては、*TAC1*(17p11.2)が10-20%(ADとARの遺伝形式がある)、*ICOS*(2q33.3)が1%以下(AR)、

CD19 (16p11.2) が1%以下 (AR)、*BAFFR* (22q13) が1%以下 (AR) であると報告されている。これらの遺伝子は、細胞表面分子のみであるが、これ以外のほとんどのCVIDが原因不明であり、80-90%のCVIDが原因不明とすることになる。

今回の研究では、SNP Chip assayによる全ゲノム解析によりCVIDの原因遺伝子を解明することを目的とした。

B. 研究方法

症例

今回提示するのは、9歳時に原発性免疫不全症と診断され、以後定期的に γ グロブリン補充を行っている男性である。予防接種はBCG、DPT、ポリオ、麻疹を受けているが、これまでに麻疹に3回罹患、また肺炎などの下気道感染にも数回罹患している (図1)。両親がはとこの6親等婚である (図2)。家系内に免疫不全、感染症による早期死亡者は認めなかった。

今回入院時は、自己免疫性溶血性貧血、肝内胆汁鬱滞があり、貧血に対しステロイド、プレドニゾロン60mg/dの投与を開始した。貧血は改善し、ステロイドを漸減、中止したが、貧血が進行したため再開した。ステロイド投与後B細胞の消失 (1%以下)、T細胞機能の低下 (PHA反応1,000台) を認めた。感染は入院後落ち着いていたが、入院2ヵ月後発熱、発疹、下痢が出現し、炎症反応高値のため抗生剤多剤を使用した。T細胞の機能低下に対し、自己活性化T細胞輸注療法を施行した。入院6ヵ月後プレドニゾロン12.5mg/日、 γ グロブリン2週間に1回投与にて軽快退院した。

その後、近医にて γ グロブリンの投与は続けていたが、ステロイドの怠薬があり、退院1年後自己免疫性溶血性貧血の再燃にて当科受診し、再入院となった。入院時Hb5.0g/dlと高度の貧血を認め、輸血およびステロイド投与にて軽快した。しかし、ステロイドを漸減、中止しようとするや貧血が進行するため、抗CD20抗体を投与したが、貧血の著明な改善は認めず、以後もステロイドの投与を継続した。

リンパ球の機能は、受診前、ステロイドが自己中断されていたためか、PHA反応は15,131cpmと上昇し、B細胞も4.5%認めていたが、入院後ステロイド治療開始に伴い両者とも低下した。ステロイドによるリンパ球アポトーシス亢進が考えられた。

C. 研究結果

1) 免疫学的検討

本症例のリンパ球サブセットを示す (図3, 4)。CD4陽性細胞の低下、Naive T細胞の低下、Memory B細胞の低下、Switched memory B細胞の低下を認めた。PMA, CaI添加後の活性化T細胞のCD69、CD40L及びB細胞のCD40、CD19、CD20の発現は正常であった。

TRECは87/ μ gDNA (normal 70~1000) と正常下限であり、T細胞新生の低下が考えられた。

CVIDの原因遺伝子の一つであるTACIは、遺伝子解析でwild typeであった。

2) 遺伝学的検討

近交係数は、ある個体が特定の遺伝子座について共通祖先からの同祖遺伝子を2つ持つ確率のことであり、本症例は6親等婚の両親を持っており、近交係数は1/64となる。つまり、患者ではホモの遺伝子座が全体の1/64と考えられる。ヒトの遺伝子は現在約25,000とされているので、その1/64である約391遺伝子がCVIDの候補遺伝子として浮かび上がってくる事になる。

これを明らかにするために、Homozygosity mappingを全ゲノムに対して行なう方法として、以前はmicrosatellite markerによる方法を用いていたが、最近ゲノムのSNPを1つのチップにのせた方法が開発されたので、それを利用して検討した。

SNP chipとして、イルミナ社のHuman-1 Genotyping BeadChipを用いた。このチップは1枚に10万種類のSNPをのせており、各SNP間の距離は約30kbpとなる。約10cMごとに設定された従来のマイクロサテライト法と比較すると、約500倍の検出精度となる。

この方法を用いると、コントロールでは、ホモとヘテロがまんべんなく分布するが、患者の解析ではホモしか見られない広範な領域が出現していることがわかり、この部分が同祖的な部分すなわち原因遺伝子を含んだ領域であると判明した。この症例の検討では、図4に示すように、2q13-2q14.3, 5q11.2-5q13.2, 7pter-p22.1, 8q24.11-24.21の4領域に原因遺伝子が存在すると考えられた。この領域には311遺伝子が存在することが知られている。

本症例では、アポトーシスの亢進が臨床病態から予想されたが、この領域内にはアポトーシス関連遺伝子としては、STEAP3 (2q14.2), MAD1L1 (7p22), NUDT1 (7p22), IL31RA (5q11.2), CARD11 (7p22), IL6ST (5q11), FSCN1 (7p22), MAP3K1 (5q11.2), TRIAD3 (7p22.1), CD180 (5q12), PMS2 (7p22.2), BIRC1 (5q13.1), JTV1 (7p22), ZNF12 (7p22.1), TNFRSF11B (8q24)が存在していた。

D. 考 察

今回同定された領域は、2q13-2q14.3, 5q11.2-5q13.2, 7pter-p22.1, 8q24.11-24.21である。

一方、これまで報告されているCVIDの原因遺伝子とそのリガンドは、以下の通りである。

ICOS (2q33.3), TACI (17p11.2), BAFFR (22q13), CD19 (16p11.2), ICOSL (21q22.3), APRIL (17p13.1), BAFF (13q32), BCMA (16p13.1)。

これらの遺伝子は、領域から考えて、本症例では不一致である。

また、これまでに報告されている常染色体優性型CVID/IgA欠損症の候補遺伝子領域は、以下の通りである。4q21 (*Finck, 2006, Eur J Hum Gen*)、5p15.3 (*Braig, 2003, Hum Gen*)、6p21.3 (*Vorechovsky, 2000, J Immunol*)、16q23 (*Schaffer, 2006, Hum Gen*)。しかしこれらの領域は、本症例では不一致である。したがって、これまで報告されているものとは異なった遺伝子異常が原因である可能性が高い。

今後、責任遺伝子の同定を進めて行くに当たって、候補遺伝子アプローチとして、Memory B

cells低下 (*Warnatz, Blood, 2002*)、T cell 新生低下 (*Giovannetti, J. Immunol, 2007; Guazzi, Clin Exp Immunol 2002*)、T cell apoptosis 亢進 (*Renzo, Clin Exp Immunol 2000*)、B cell apoptosis 亢進 (*Saxon, Clin Exp Immunol 1995; Guo, Cell Immunol, 1995*)、Bone marrow 前駆細胞減少 (*Isgro, J Immunol, 2005*)などの表現型を考慮に入れて、候補遺伝子を絞り込んでいく予定である。さらに、近親婚症例の追加による候補領域の縮小できれば、原因遺伝子同定により近づくと考えられる。

E. 結 論

AIHAを合併したリンパ球減少を伴うCVIDの1例を経験した。AIHAはステロイド依存性であり、抗CD20抗体投与に抵抗性であった。

6親等婚子であったため、SNP chipを用いた全ゲノム検索を行い、広範囲のホモ接合部を4か所同定した。その部位は311の遺伝子を含んでいた。

今後、症例の蓄積、候補遺伝子検索により、常染色体劣性型CVIDの原因遺伝子同定につながる可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

- 1) Tokutomi T, Hayashi S, Imai K, Chida A, Ishiwata T, Asano Y, Inazawa J, Nonoyama S
dup(8p)/del(8q)recombinant chromosome in a girl with hepatic focal nodular hyperplasia. *Am J Med Genet A*.143:1334-1337, 2007.
- 2) Matsubara K, Imai K, Okada S, Miki M, Ishikawa N, Tsumura M, Kato T, Ohara O, Nonoyama S, Kobayashi M.
Severe developmental delay and epilepsy in a Japanese patient with severe congenital neutropenia due to HAXI deficiency: Development delay and epilepsy in HAXI

- deficiency. *Haematologica* 92:e123-125,2007.
- 3) Tsuji Y, Imai K, Morinishi Y, Kanai T, Tamura T, Kurokawa T, Kogawa K, Morino M, Nonoyama S. Successful unrelated cord blood transplantation for a patient with CD40 ligand deficiency *Haematologica* 92:1727-1728,2007
- 4) Geha RS, Notarangelo LD, Casanova J-L, Chapel H, Conley ME, Fischer A, Hammarstrom L, Nonoyama S, Ochs HD, Puck JM, Roifman C, Seger R, and Wedgwood J, :Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. *J Allergy Clin Immunol* 120: 776-794.2007
- 5) Tsuji Y, Kogawa K, Imai K, Kanegane H, Fujimoto J, Nonoyama S Evans syndrome in a patient with langerhans cell histiocytosis:possible pathogenesis of autoimmunity in LCH
Int J Hematolo 87:75-77.2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

CD19欠損による低ガンマグロブリン血症の1例

金 兼 弘 和 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)

二 谷 武 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)

Mostafa Mohamed Sira (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)

上 松 一 永 (信州大学医学部大学院移植感染免疫学)

研究要旨

抗体産生不全症は代表的な先天性免疫不全症であり、主な病型は、XLAとCVIDである。最近CVIDの原因遺伝子として*ICOS*、*TACI*、*CD19*、*CD21*が相次いで同定され、今回本邦初、世界で3家系目となる*CD19*欠損症を同定した。症例は8歳男児、5歳時に繰り返す細菌感染症をきっかけに低ガンマグロブリン血症に気づかれ、CVIDと診断された。血小板減少症も合併したが、免疫グロブリン定期補充療法を開始後、易感染性なく経過良好である。患者末梢血B細胞はCD20陽性であったが、CD19陰性であったことよりCD19欠損症を疑った。*CD19*遺伝子解析を行ったところ、IVS5-1G>Tによるエクソン6スキップが同定された。両親の*CD19*遺伝子解析を行ったところ、母親は同部位のヘテロ接合体であったが、父親は正常であった。父親由来アレルの同部位の欠失を疑い、*CD19*遺伝子のFISHを行ったところ、患者の片アレルで*CD19*遺伝子の欠失が認められた。

A. 研究の目的

B細胞は骨髄内において造血幹細胞に由来する共通リンパ球前駆細胞からT細胞系細胞やNK細胞系細胞と同様に分化したプロB細胞がプレB細胞へと分化し、さらに成熟B細胞となり末梢血に出現する。末梢血では表面IgMおよびIgDのみを発現したナイーブB細胞がクラススイッチを受けて、IgG、IgA、IgEを発現したメモリーB細胞さらには形質細胞となり免疫グロブリンを産生する。一連のB細胞分化段階のいずれかに障害が起こった場合に臨床的に抗体産生不全症となる。抗体産生不全症の代表的疾患であるXLAではBTK欠損のためプロB細胞からプレB細胞への分化障害が生じ、末梢血B細胞が欠損する。 μ 重鎖、Ig α 、Ig β 、 λ 5、BLNK、LRCC8の欠損による常染色体劣性無ガンマグロブリン血症においてもXLAと同様にプロB細胞からプレB細胞への分化段階に障害があり、末梢血B細胞が欠損する。クラススイッチの異常によって高IgM症候群となるが、クラススイッチに関わる分子はCD40Lの

みならず、CD40、AID、UNG、Cernunnosなどがあり、これらの欠損によっても高IgM症候群となる。従来原因不明とされてきたCVIDにおいてもナイーブB細胞からIgMメモリーB細胞への分化障害が認められ、その責任遺伝子としてこれまで*ICOS*、*TACI*、*CD19*、*CD21*が同定されている。今回は本邦初、世界で3家系目となる*CD19*欠損症を同定したので、その免疫学的、遺伝学的解析を行った。

B. 研究方法

患児または代諾者よりインフォームドコンセントを得て、患児および両親の末梢血より比重遠心法により単核球を分離し、DNAおよびRNAを抽出して、*CD19*遺伝子の塩基配列を検討した。またLA-PCR法により*CD19*、*ATP2A1*、*NFATC2IP*遺伝子を増幅し、ジゴキシンゲンでラベルした後FISH法を行った。患者ならびに正常対照の末梢血単核球より免疫磁気ビーズにてCD20陽性のB細胞を得た。このB細胞を臍帯血由来樹状細胞、

CD40LをトランスフェクトしたL細胞、IL-10存在下で刺激培養し、ELISPOT法にて免疫グロブリン産生細胞数を同定した。また純化したB細胞より得られたcDNAのV_H5-C μ 領域を増幅し、pCR2.1ベクターにライゲーションしてから13のクローンを選択し、塩基配列を決定し、somatic hypermutationを評価した。

(倫理面への配慮) 本研究は、ヒト遺伝子解析を含むので、試料提供者の人権および利益の保護の取り扱いについて慎重に配慮した。本研究における遺伝子解析に関しては、富山大学倫理審査委員会で承認を得ているので、その指針を遵守して行った。

C. 研究結果

1. 症例報告

症例は8歳男児で、主訴は低ガンマグロブリン血症である。家族歴では家系内で易感染性を示すものはいない。5歳時に腎盂腎炎、急性気管支炎、急性胃腸炎のために入院加療を要し、精査にて低ガンマグロブリン血症 (IgG 249mg/dl、IgA 10mg/dl、IgM 18mg/dl) を指摘された。リンパ球サブセットではCD3 62.7%、CD4 37.6%、CD8 27.6%、CD20 19%、CD56 8.0%とB細胞数が正常であり、家族歴もないことからCVIDと考えられ、免疫グロブリン補充療法が施行された。なお平成17年8月より血小板減少を合併している。当教室にてリンパ球サブセットを再検したところ、CD20は陽性であったが、CD19陰性であったことから、CD19欠損症が疑われた (図1)。

2. CD19遺伝子解析

CD19遺伝子の各エクソンとその近傍を増幅してダイレクトシーケンスにて塩基配列を調べたところ、イントロン5のスプライスアクセプターサイトに1塩基置換 (IVS5-1G>T) が同定された (図2)。エクソン6のスキップが予想され、cDNAにてエクソン6を挟むように増幅したところ、エクソン6のスキップが同定され、フレームシフトによりエクソン7内にストップコドンが示

された。これまでCD19欠損症として2家系 (972 insA、1384delGA) が報告されている¹⁾ が、今回同定された変異は新奇の遺伝子変異であり、CD19欠損症として世界で3家系目であることが判明した。

次に両親の遺伝子解析を行ったところ、母親では方アレルに患児と同じ遺伝子変異 (IVS5-1G>T) を認めしたが、父親では変異が同定されなかった。そこでLA-PCR法にて増幅したCD19遺伝子をラベルしFISH法を行ったところ、患児では片アレルでCD19遺伝子の欠失を認めた (図3)。CD19遺伝子近傍のATP2A1ならびにNFATC2IP遺伝子についても同様にFISH法を行ったところ、患児では片アレルに欠失を認めた。

3. 免疫学的解析

In vitroにおける免疫グロブリン産生能を調べたところ、患者では正常対照に比べて免疫グロブリン産生能の低下を認めた (図4)。末梢血B細胞におけるナイーブ・メモリー分画を調べたところ、患児では正常に比べてCD27陽性のメモリーB細胞が減少していた (図5)。またB細胞におけるsomatic hypermutationの頻度を調べたところ13クローン中6クローンでsomatic hypermutationが認められた (図5)。

D. 考察

日本で始めて、世界で3家系目となるCD19欠損による低ガンマグロブリン血症の8歳男児例を同定した。患児ではイントロン5に新奇点変異 (IVS5-1G>A) を認め、エクソン6のスキップのため、フレームシフトを来たしていた。母親は保因者であったが、父親は正常であった。父親由来のアレルで母親と同じ変異が突然変異で生じている可能性は極めて低く、父親由来のアレルが大きく欠失しているために見かけ上正常である可能性を考え、FISH法による証明を試みた。その結果患児ではCD19遺伝子のみならず、その近傍の遺伝子も含め、少なくとも55kbの大欠失を認めた。したがって患児はイントロン5の1塩基置換とCD19遺伝子欠失による複合ヘテロ接合体と診

断した。

免疫学的解析ではin vitroにおけるB細胞の免疫グロブリン産生能は正常に比べて低下していた。末梢血B細胞におけるメモリー分画は正常に比べて低下していたが、少なからず存在し、somatic hypermutationも少なからず認められた。CD19遺伝子はB細胞の分化に重要ではあるが、ナイーブB細胞からメモリーB細胞への分化にはそれほど重要ではないのかもしれない。これらの免疫学的特徴はすでに報告されているCD19欠損症の3例（2家系）と同様であった。

E. 結 論

世界で3家系目となるCD19欠損症を同定した。1塩基置換と遺伝子欠失による複合ヘテロ接合体であり、いずれも新奇遺伝子変異であった。In vitroにおける免疫学的異常はすでに報告されているCD19欠損症と同様であり、CD19欠損症は独立した疾患単位として確立されたものと考えられる。

謝辞

貴重な症例をご紹介いただきました高松赤十字病院小児科の須賀健一、関口隆典先生ならびにFISH解析を行っていただきました三菱メディサイエンスに深謝いたします。また解析にあたりご助言をいただきましたErasmus MCのDr. MC van Zelmに深謝いたします。

参考文献

1. van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, Castano D, van Noesel CJM, van Tol MJD et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. N Engl J Med 2006;354:1901-1912.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

学会発表

1. 金兼弘和, 上松一永, 二谷 武, M.M. Sira, 須賀健一, 関口隆典, 宮脇利男: CD19欠損による低ガンマグロブリン血症の1例. 第30回日本小児遺伝学会, 2007, 4, 京都.

論文発表

1. Kanegane H, Agematsu K, Futatani T, Sira MM, Suga K, Sekiguchi T, van Zelm MC, Miyawaki T: Novel mutations in a Japanese patient with CD19 deficiency. Genes Immun 2007 8:663-670.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

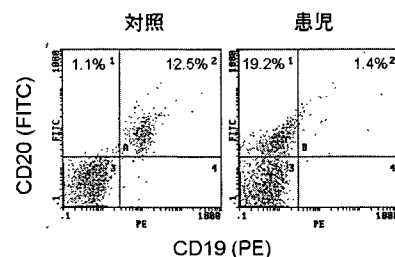


図1 フローサイトメトリーによる末梢血B細胞数の測定

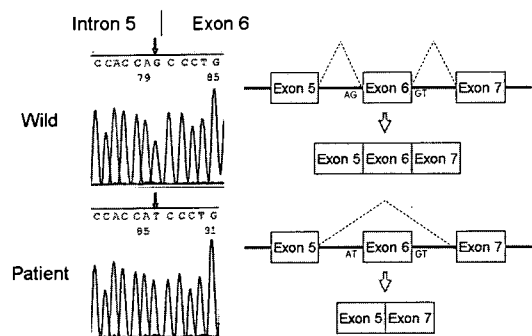


図2 CD19遺伝子解析
矢印はイントロン5の-1の部位を示す。

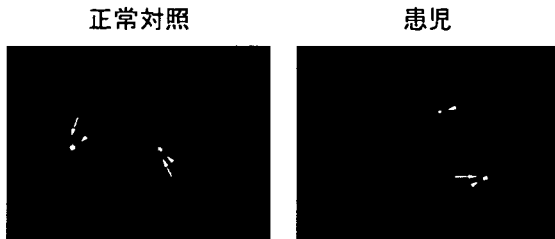


図3 FISH法によるCD19遺伝子の局在
 矢印頭は16番染色体のセントロメアブローブ (D16Z3)を示す。矢印はCD19遺伝子特異的ブローブ (エクソン1-15)を示す。

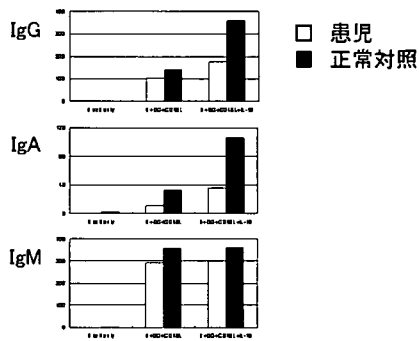


図4 *In vitro*における免疫グロブリン産生能
 ELISPOT法による陽性細胞数を示す。

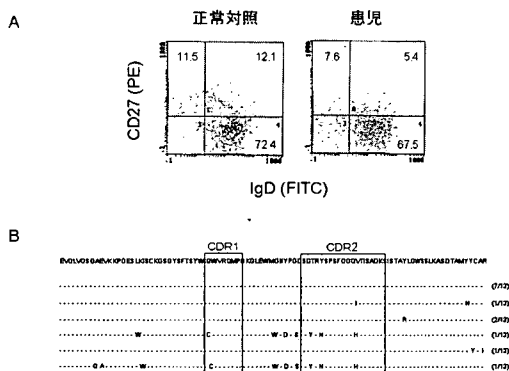


図5 末梢血B細胞におけるナイーブ・メモリー分画とsomatic hypermutation
 ナイーブ・メモリー分画はCD20陽性細胞におけるCD27とIgDの発現を調べた(A)。somatic hypermutationはB細胞におけるVH5-C μ 転写物をクローン化し塩基配列を決定した(B)。

IV 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧

書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
原 寿郎	原発性免疫不全症候群	山口 徹、北原光夫、 福井次矢	今日の治療指針2008	医学書院	東京	2008	
原 寿郎	免疫不全症		Year Note 2008	メディック メディア	東京	2008	
原 寿郎	先天性免疫不全症候群		小児科電子教科書 2007			2007	
原 寿郎	免疫疾患	飯沼一字、有坂 治、 竹村 司、渡辺 博	小児科学・新生児学 テキスト第5版	診断と治療社	東京	2007	322-342
H.Nunoi	Chater 11. Diseases with abnormal actin and actin-binding proteins in leuko- cyte and nonmuscle cells.	Cris dos Remedios and Deepak Chhabra.	Protein Reviews “Actin-Binding Proteins and Disease”	Springer Science	Ger- many	2008	278-289
有賀 正	DiGeorge症候群	佐地 勉、有坂 治、 大澤真木子、 近藤直実、竹村 司	講義録 小児科	MEDICAL VIEW	東京	in press	
有賀 正	Wiskott-Aldrich症候群	佐地 勉、有坂 治、 大澤真木子、 近藤直実、竹村 司	講義録 小児科	MEDICAL VIEW	東京	in press	
有賀 正	無ガンマグロブリン血症	新川詔夫	眼で見る遺伝病とター ナー症候群	メディアアート	東京	in press	
有賀 正	重症複合免疫不全症	新川詔夫	眼で見る遺伝病とター ナー症候群	メディアアート	東京	in press	
岩田 力	免疫不全 スタンダード 栄養・食物シリーズ4 疾病の成り立ち II. 臓器別の病気	近藤和雄、背山洋右、 藤原葉子、森田寛		東京化学同人	東京	2007	192-198
岩田 力	免疫不全と感染症	岡部信彦	小児感染症学	診断と治療社	東京	2008	138-154
千住 覚, 西村泰治	T細胞応答の抑制性制御	谷口維紹、山本一彦	免疫応答と免疫病態 の統合的分子理解	南山堂	東京	2007	116-122
千住 覚, 西村泰治	MHCとは何か		アニテックス特集 「動物MHC」	研成社	東京	2007	3-8

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kanegane H., <u>Agematsu K.</u> , Futatani T., Sira M.M., Suga K., Sekiguchi T., Zelm M.C., and <u>Miyawaki T.</u>	Novel mutation in a Japanese patient with CD19 deficiency.	Genes Immun	8	663-670	2007
Fuchizawa T., Adachi Y., Ito Y., Higashiyama H., Kanegane H., Futatani T., Kobayashi I., <u>Kamachi Y.</u> , Sakamoto T., Tsuge I., Tanaka H., Banham A.H., Ochs H.D., and <u>Miyawaki T.</u>	Developmental changes of FOXP3-expressing CD4+CD25+ regulatory T cells and their impairment in patients with FOXP3 gene mutations.	Clin Immunol	125	237-246	2007
Atarod L., Aghamohammadi A., Moin M., Kanegane H., Rezaei N., Rezaei K.K., Amirzagar A.A., Futatani T., and <u>Miyawaki T.</u>	Successful management of neutropenia in a patient with CD40 ligand deficiency by immunoglobulin replacement therapy.	Iran J Allergy Asthma Immunol	6	37-40	2007
Arai A., Kitano A., Kanegane H., <u>Miyawaki T.</u> , and Miura O.:	Relapsing campylobacter coli bacteremia with reactive arthritis in a patient with X-linked agammaglobulinemia.	Intern Med	46	605-609	2007
Kanegane H., Itazawa T., Saito M., Nishikomori R., Makino T., Shimizu T., Adachi Y., <u>Nakahata T.</u> , and <u>Miyawaki T.</u>	A <i>CIAS1</i> mutation in a Japanese girl with familial cold autoinflammatory syndrome.	Eur J Pediatr	167	245-247	2008
Amoras AL., da Silva MT., Zollner RL., Kanegane H., <u>Miyawaki T.</u> , and Vilela MM.	Expression of Fc γ and complement receptors in monocytes of X-linked agammaglobulinaemia and common variable immunodeficiency patients.	Clin Exp Immunol	150	422-428	2007
Taneichi H., Kanegane H., Sira MM., Futatani T., <u>Agematsu K.</u> , Sako M., Kaneko M., <u>Kondo N.</u> , Kaisho T., and <u>Miyawaki T.</u>	Toll-like receptor signaling is impaired in dendritic cells from patients with X-linked agammaglobulinemia.	Clin Immunol	126	148-154	2008
Toita N., Hatano N., Ono S., Yamada M., Kobayashi R., Kobayashi I., Kawamura N., Okano M., Satoh A., Nakagawa A., Ohshima K., Shindoh M., Takami T., Kobayashi K., and <u>Ariga T.</u>	Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoma in a patient with DNA ligase IV (LIG4) syndrome.	Am J Med Genet Part A	143 A	742-745	2007
Suzuki D., Kobayashi R., Kaneda M., Sato T., Ichikawa M., and <u>Ariga T.</u>	Severe phimosis as a notable sequela of allogeneic stem cell transplantation in boys.	Bone Marrow Transplant	40	335-338	2007
Minegishi Y., Saito M., <u>Tsuchiya S.</u> , Takada H., <u>Hara T.</u> , Kawamura N., <u>Ariga T.</u> , Pasic S., Stojkovic O., Metin A., and <u>Karasuyama H.</u>	Dominant-negative mutations in the DNA-binding domain of STAT3 cause Hyper-IgE syndrome.	Nature	448	1058-1062	2007
Ebihara T., Masuda H., Akazawa T., Shingai M., Kikuta H., <u>Ariga T.</u> , Matsumoto M., and Seya T.	Induction of NKG2D ligands on human dendritic cells by TLR ligand stimulation and RNA virus infection.	Int Immunol	19	1145-1155	2007
Sato T., Kobayashi R., Toita N., Kaneda M., Hatano N., Iguchi A., Kawamura N., and <u>Ariga T.</u>	Stem cell transplantation in primary immunodeficiency disease patients.	Pediatr Int	49	795-800	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kobayashi R., Kaneda M., Sato T., Suzuki D., Ichikawa M., and <u>Ariga T.</u>	Evaluation of risk factors for invasive fungal infection after allogeneic stem cell transplantation in pediatric patients.	J Pediatr Hematol Oncol	29	786-791	2007
Minegishi M., Itoh T., Fukawa N., Kitaura T., Miura J., Takahashi H., Suzuki A., Kudo Y., Narita A., Sato Y., Suzuki M., Watanabe T., Wada Y., Takeyama Y., and <u>Tsuchiya S.</u>	Quality of umbilical cord blood CD34+ cells in a double-compartment freezing bag cryopreserved without a rate-controlled programmed freezer.	Int J Hematol	85	78-84	2007
Koga S., Yamaguchi N., Abe T., Minegishi M., <u>Tsuchiya S.</u> , Yamamoto M., and Minegishi N.	Cell-cycle-dependent oscillation of GATA2 expression in hematopoietic cells.	Blood	109	4200-4208	2007
Saito A., Sugawara A., Urano A., Kudo M., Kagechika H., Sato Y., Owada Y., Kondo H., Sato M., Kurabayashi M., Imaizumi M., <u>Tsuchiya S.</u> , and Ito S.	All-trans retinoic acid induces in vitro angiogenesis via retinoic acid receptor: possible involvement of paracrine effects of endogenous vascular endothelial growth factor signaling.	Endocrinology	148	1412-1423	2007
Tokutomi T., Hayashi S., Imai K., Chida A., Ishiwata T., Asano Y., Inazawa J., and <u>Nonoyama S.</u>	dup(8p)/del(8q) recombinant chromosome in a girl with hepatic focal nodular hyperplasia.	Am J Med Genet A	143	1334-1337	2007
Matsubara K., Imai K., Okada S., Miki M., Ishikawa N., Tsumura M., Kato T., Ohara O., <u>Nonoyama S.</u> , and <u>Kobayashi M.</u>	Severe developmental delay and epilepsy in a Japanese patient with severe congenital neutropenia due to HAXI deficiency: Development delay and epilepsy in HAXI deficiency.	Haematologica	92	e123-125	2007
Tsuji Y., Imai K., Morinishi Y., Kanai T., Tamura S., Kurokawa T., Kogawa K., Morino M., and <u>Nonoyama S.</u>	Successful unrelated cord blood transplantation for a patient with CD40 ligand deficiency.	Haematologica	92	1727-1728	2007
Geha RS., Notarangelo LD., Casanova JL., Chapel H., MD, Conley ME., MD, Fischer A., Hammarstrom L., <u>Nonoyama S.</u> , Ochs MD., Puck JM., Roifman C., Seger R., and Wedgwood J.	Primary immunodeficiency diseases :an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee.	J Allergy Clin Immunol	120	776-794	2007
Tsuji Y., Kogawa K., Imai K., Kanegane H., Fujimoto J., and <u>Nonoyama S.</u>	Evans syndrome in a patient with langerhans cell histiocytosis: possible pathogenesis of autoimmunity in LCH.	Int J Hematol	87	75-77	2008
Ideura G., Agematsu K., Komatsu Y., Hatayama O., Yasuo M., Tsushima K., Hanaoka M., Koizumi T., Fujimoto K., and Kubo K.	Selective IgM deficiency accompanied with IgG4 deficiency, dermal complications and a bronchial polyp :a case report	Allergology Int	57	1-7	2008
<u>Kondo N.</u>	Current position of Japanese and Chinese medicine in regard to tailor-made medicine -From the viewpoint of allergic disorders-	J Traditional Medicines	24	43-46	2007
Kato Z., Yamagishi A., and <u>Kondo N.</u>	Interstitial deletion of 1q42.13-q43 with Duane retraction syndrome.	J AAPOS	11	62-64	2007
Funato M., Kaneko H., Matsui E., Teramoto T., Kato Z., Fukao T., Okusu K., and <u>Kondo N.</u>	Refractory osteomyelitis caused by bacille Calmette-Guerin vaccination :a case report.	Diagn Microbiol Infect Dis	59	89-91	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Funato M., Kaneko H., Ozeki M., Suzuki H., Orii K., Teramoto T., Fukao T., and <u>Kondo N.</u>	A positive Donath-Landsteiner test in paroxysmal cold haemoglobinuria.	Eur J Haematol	79	462	2007
Ozeki M., Funato M., Kanda K., Ito M., Teramoto T., Kaneko H., Fukao T., and <u>Kondo N.</u>	Clinical improvement of diffuse lymphangiomatosis with pegylated interferon alfa-2b therapy: case report and review of the literature.	Pediatr Hematol Oncol	24	513-524	2007
Kato T., Kato Z., Kuratsubo I., Ota T., Orii T., <u>Kondo N.</u> , and Suzuki Y.	Evaluation of ADL in patients with Hunter disease using FIM score.	Brain Dev	29	298-305	2007
Sakurai S., Fukao T., Haapalainen A., Zhang G., Yamada K., Lilliu F., Yano S., Robinson P., Gibson MK., Wanders RJA., Mitchell GA., Wierenga RK., and <u>Kondo N.</u>	Kinetic and expression analysis of seven novel mutations in mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2): Identification of a Km mutant and analysis of the mutational sites in the structure .	Mol Genet Metab	90	370-378	2007
Kondo M., Fukao T., Shinoda S., Kawamoto N., Kaneko H., Kato Z., Matsui E., Teramoto T., Nakano T., and <u>Kondo N.</u>	Lymphocyte responses to chymotrypsin- or trypsin V-digested β -lactoglobulin in patients with cow' s milk allergy.	Allergy Asthma Clin Immunol	3	1-9	2007
Montano MA., Sukegawa K., Kato Z., Carrozzo R., Natale PD., Christensen E., Orii K., Orii T., <u>Kondo N.</u> , and Tomatsu S.	Effect of "attenuated" mutations in mucopolysaccharidosis IVA on molecular phenotypes of N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase.	J Inherit Metab Dis	30	758-767	2007
Matsuo N., Imamura A., Ito R., Sugawara K., Takahashi Y., and <u>Kondo N.</u>	The correlation between H-MR spectroscopy and clinical manifestation with tuberous sclerosis complex.	Neuropediatrics	38	126-129	2007
Ohya Y., Watanabe H., Kojima N., Katsunuma T., <u>Kondo N.</u> , and Akasawa A.	Impact of pediatric asthma and treatment on care-givers visiting specialist clinics in Japan.	J Allergy Clin Immunol	119	S41-S42	2007
<u>Kondo N.</u> , Matsui E., and Nishimura A.	A genetic classification and a tailor-made medicine in allergic disorders.	Korean J Asthma Allergy Clin Immunol	27	83-86	2007
Fukao T., Zhang G., Aoki Y., Arai T., Teramoto T., Kaneko H., Sugie H., and <u>Kondo N.</u>	Identification of Alu-mediated, large deletion-spanning introns 19-26 in PHKA2 in a patient with X-linked liver glycogenosis (hepatic phosphorylase kinase deficiency).	Mol Genet Metab	92	179-182	2007
Fukao T., Kursula P., Owen EP., and <u>Kondo N.</u>	Identification and characterization of a temperature-sensitive R268H mutation in the human succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene.	Mol Genet Metab	92	216-221	2007
Haapalainen A., Merilinen G., Piril P., <u>Kondo N.</u> , Fukao T., and Wierenga R.	Crystallographic and kinetic studies of human mitochondrial acetoacetyl-CoA thiolase (T2): the importance of potassium and chloride ions for its structure and function.	Biochemistry	10	4305-4321	2007
Yamada K., Fukao T., Suzuki H., Inoue R., Kondo T., and <u>Kondo N.</u>	Vitamin K-deficient intracranial hemorrhage as the first symptom of cytomegalovirus hepatitis with cholestasis.	Tohoku J Exp Med	212	335-339	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uehara R., Nakamura Y., Matsuura N., <u>Kondo N.</u> , and Tada H.	Dioxins in human milk and smoking of mothers.	Chemosphere	68	915-920	2007
Yamada K., Fukao T., Zhang G., Sakurai S., Ruitter JPN., Wanders RJA., and <u>Kondo N.</u>	Single-base substitution at the last nucleotide of exon 6 (c.671G>A), resulting in the skipping of exon 6, and exons 6 and 7 in human Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) gene.	Mol Genet Metab	90	291-297	2007
Kato Z., Nakamura M., Funato M., Kuwabara H., and <u>Kondo N.</u>	Accidental etizolam ingestion in a child.	Pediatr Emerg Care	23	472-473	2007
Aoki M., Fukao T., Kaneko H., Mizunaga S., Mitsuyama J., Sawamura H., Seishima M., and <u>Kondo N.</u>	Clinical and bacteriological evaluation of the efficacy of piperacillin in children with pneumonia.	J Infect Chemother	13	224-229	2007
Aoyama Y., Asai K., Hioki K., Funato M., <u>Kondo N.</u> , and Kitajima Y.	Herpes gestationis in a mother and newborn: immunoclinical perspectives based on a weekly follow-up of the enzyme-linked immunosorbent assay index of a bullous pemphigoid antigen noncollagenous domain.	Arch Dermatol	143	1168-1172	2007
Doi T., Yamada H., Yajima T., Wajjwalku W., <u>Hara T.</u> , and Yoshikai Y.	H2-M3-restricted CD8+ T cells induced by peptide-pulsed dendritic cells confer protection against Mycobacterium tuberculosis.	J Immunol	178	3806-3813	2007
Ku CL., von Bernuth H., Picard C., Zhang SY., Chang HH., Yang K., Chrabieh M., Issekutz AC., Cunningham CK., Gallin J., Holland SM., Roifman C., Ehl S., Smart J., Tang M., Barrat FJ., Levy O., McDonald D., Day-Good NK., Miller R., Takada H., <u>Hara T.</u> , Al-Hajjar S., Al-Ghoniaim A., Speert D., Sanlaville D., Li X., Geissmann F., Vivier E., Marodi L., Garty BZ., Chapel H., Rodriguez-Gallego C., Bossuyt X., Abel L., Puel A., and Casanova JL.	Selective predisposition to bacterial infections in IRAK-4-deficient children: IRAK-4-dependent TLRs are otherwise redundant in protective immunity.	J Exp Med	204	2407-2422	2007
Ni R., Ihara K., Miyako K., Kuromaru R., Inuo M., Kohno H., and <u>Hara T.</u>	PD-1 gene haplotype is associated with the development of type 1 diabetes mellitus in Japanese children.	Hum Genet	121	223-232	2007
Nagafuchi S., Umene K., Yamanaka F., Oohashi S., Shindo M., Kurisaki H., Kudoh J., Shimizu N., <u>Hara T.</u> , and Harada M.	Recent herpes simplex virus infection in a patient with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy associated with L29P and IVS9-1G>C compound heterozygous autoimmune regulator gene mutations.	J Intern Med	261	605-610	2007
Furuno K., Takada H., Yamamoto K., Ikeda K., Ohno T., Khajooe V., Mizuno Y., and <u>Hara T.</u>	Tissue inhibitor of metalloproteinase 2 and coronary artery lesions in Kawasaki Disease.	J Pediatr	151	155-160	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ichiyama T., Siba P., Suarkia D., Takasu T., Miki K., Kira R., Kusuhara K., <u>Hara T.</u> , Toyama J., and Furukawa S.	Serum levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 in subacute sclerosing panencephalitis.	J Neurol Sci	252	45-48	2007
Ikeda K., Ihara K., Yamaguchi K., Muneuchi J., Ohno T., Mizuno Y., and <u>Hara T.</u>	Genetic analysis of MMP gene polymorphisms in patients with Kawasaki disease.	Pediatr Res	63	182-185	2008
Kusuhara K., Yamamoto K., Okada K., Mizuno Y., and <u>Hara T.</u>	Association of IL12RB1 polymorphisms with susceptibility to and severity of tuberculosis in Japanese: a gene-based association analysis of 21 candidate genes.	Int J Immunogenet	34	35-44	2007
Shinoda G., Umeda K., Heike T., Arai M., Niwa A., Ma F., Suemori H., Luo H.Y., Chui D.H.K., Torii R., Shibuya M., Nakatsuji N., and <u>Nakahata T.</u>	α 4-integrin+ endothelium derived from primate embryonic stem cells generates primitive and definitive hematopoietic cells.	Blood	109	2406-2415	2007
Fujisawa A., Kambe N., Saito M., Nishikomori R., Tanizaki H., Kanazawa N., Adachi S., Heike T., Sagara J., Suda T., <u>Nakahata T.</u> , and Miyachi Y.	Disease-associated mutations in CIAS1 induce cathepsin B-dependent rapid cell death of human THP-1 monocytic cells.	Blood	109	2903-2911	2007
Yui Y., Umeda K., Kaku H., Arai M., Hiramatsu H., Watanabe K., Saji H., Adachi S., and <u>Nakahata T.</u>	A pediatric case of transfusion-related acute lung injury following bone marrow infusion.	Pediatr Transplant	11	543-546	2007
Suzuki K., Hiramatsu H., Fukushima-Shintani M., Heike T., and <u>Nakahata T.</u>	Efficient assay for evaluating human thrombopoiesis using NOD/SCID mice transplanted with cord blood CD34+ cells.	Eur J Haematol	78	123-130	2007
Fujino H., Hiramatsu H., Tsuchiya A., Niwa A., Noma H., Shiota M., Umeda K., Yoshimoto M., Ito M., Heike T., and <u>Nakahata T.</u>	Human cord blood CD34+ cells develop into hepatocytes in the livers of NOD/SCID/gcnull mice through cell fusion.	FASEB J	21	3499-3510	2007
Yamamura K., Ohishi K., Katayama N., Kato K., Shibasaki T., Sugimoto Y., Miyata E., Shiku H., Masuya M., Nishioka J., Nobori T., Nishikawa M., Inagaki Y., Hiramatsu H., and <u>Nakahata T.</u>	Notch ligand Delta-1 differentially modulates the effects of gp130 activation on interleukin-6 receptor α -positive and -negative human hematopoietic progenitors.	Cancer Sci	98	1597-1603	2007
Niwa A., Matsubara H., Adachi S., Fujino H., Higashi Y., Umeda K., Shiota M., Hiramatsu H., Kobayashi M., Watanabe K., Yorifuji T., and <u>Nakahata T.</u>	Diabetes mellitus after stem cell transplantation in a patient with acute lymphoblastic leukemia: possible association with tacrolimus.	Pediatr Int	49	530-532	2007
Ma F., Wang D., Hanada S., Ebihara Y., Kawasaki H., Zaïke Y., Heike T., <u>Nakahata T.</u> , and Tsuji K.	Novel method for efficient production of multipotential hematopoietic progenitors from human embryonic stem cells.	Int J Hematol	85	371-379	2007
Kato K., Yoshimoto M., Kato K., Adachi S., Yamayoshi A., Arima T., Asanoma K., Kyo S., <u>Nakahata T.</u> , and Wake N.	Characterization of side-population cells (SP cells) in human normal endometrium.	Human Reproduction	22	1214-1223	2007