

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17年度～平成19年度 総合研究報告書

主任研究者 宮 脇 利 男

平成20年3月

# 目 次

I. 総合研究報告書 .....	1
宮脇 利男（富山大学院医学薬学研究部小児科学教授 原発性免疫不全症候群に関する調査研究班 主任研究者）	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	15
III. 研究成果の刊行物・別冊 .....	38

# I 総合研究報告書

## 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

（富山大学院医学薬学研究部小児科学教授）

### 研究要旨

本調査研究では、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の向上を目的に、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、5) ホームページの充実と患者QOLの改善を掲げ、平成17年より3年間にわたり調査研究を推進した。疫学調査研究では、臨床調査個人票を活用した全国登録に努め、登録総数は1,297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の遺伝子解析を進め、新規責任遺伝子を含め新たに223家系で遺伝子解析による確定診断を行なった。各種疾患の基礎的・臨床的解析を行い、新規責任遺伝子として世界に先駆けて1型高IgE症候群の責任遺伝子 *STAT3* 及び2型高IgE症候群の責任遺伝子 *Tyk2* を同定した。治療法の改良については、抗体産生不全症で必要となる免疫グロブリン補充療法の用量見直しに協力し、全国実態調査に基づき重症複合免疫不全症、Wiskott-Aldrich症候群、慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植の統一したガイドライン案を作成した。ホームページの充実と患者QOLの改善については、ホームページや電話を通して患者・家族からの問合せに親身に答え、遺伝子解析や遺伝カウンセリングに誠意をもって対応するとともに、患者・家族会では講演や医療相談に積極的に参画した。

### 分担研究者

有賀 正 北海道大学大学院医学研究科小児学分野教授  
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小児医学講座准教授  
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 宮崎大学医学部生殖発達学講座小児科学教授  
原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学教授  
岩田 力 東京家政大学家政学部児童学科教授  
中畑 龍俊 京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学教授  
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准教授  
小林 正夫 広島大学大学院医歯薬学総合研究科展開医科学専攻病態情報医科学講座小児科教授  
烏山 一 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科生体環境応答学系専攻免疫アレルギー学分野教授  
千住 覚 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野准教授  
谷内江昭宏 金沢大学医学部保健学科検査技術学専攻医学病態検査学教授  
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育加齢医学講座小児科学講師

## A. 研究目的

本調査研究班は、昭和49年の発足以来、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の向上に尽力してきた。近年の基礎免疫学の進歩により、ここ15年の間に永年原因が不明であった原発性免疫不全症候群に包括される多くの疾患で責任遺伝子が明らかとなり、臨床の現場で有用なフローサイトメトリー法による簡易診断の開発を進めるとともに、確定診断に欠かすことのできない遺伝子解析を積極的に導入し、分担を明確にかつ連携を密にし、正確な患者・保因者診断に努めてきた。また、原発性免疫不全症候群は平成6年に特定疾患治療研究事業の対象としての指定も受け、診断基準の策定、根治療法としての造血幹細胞移植の適応拡大や遺伝子治療の推進を図り、ホームページを通じて、知識の普及、意見交換、患者・家族や主治医からの診断や治療に関する質問にも誠意をもって対応してきた。しかしながら、責任遺伝子の不明なものが未だ多く、適切な治療が施されないと致死的となるか、成人期まで尾を引き日常生活にも支障となる合併症を残す危惧があり、更なる病態解明、時代にあった診断基準や治療指針の見直し、専門病院の整備などが求められている。

このような背景をもとに、平成17年度からは研究組織を一新し、3年間に渡り、原発性免疫不全症候群に含まれる多岐にわたる疾患について、従来にも増して、基礎と臨床の連携を一層深め、包括的、総合的に調査研究を進めるべく、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、5) ホームページの充実と患者QOLの改善を掲げ、国際的動向を十分に視野に入れて調査研究を推進し、患者・家族のQOLの向上に一層寄与することを目的とした。

## B. 研究方法

### 1. 疫学調査研究

責任遺伝子に基づく診断基準の見直し、患者登録を推進し、臨床調査個人票を活用し、個々の疾患の頻度や予後を明らかにする。

### 2. 簡易診断法の開発と遺伝子解析

臨床の現場で有用な新たな簡易診断法や早期診断につながるスクリーニング法の開発、遺伝子解析については、役割分担を明確にして実施する。

### 3. 責任遺伝子、発症機構、病態の解明

責任遺伝子の同定や病態の解明は、正確な診断や適切な治療法の開発に欠かすことができない。基礎からの助言を得、海外の研究者との情報交換・共同研究をも推進し、日本を発進地とした新たな責任遺伝子の同定や病態の解明に努める。

### 4. 治療法の改良と遺伝子治療

患者の生活の実態を調査し、免疫グロブリン補充療法や抗菌薬の適切使用、支適な造血幹細胞移植のプロトコルの策定、適応拡大を図る。期待の高い遺伝子治療について、臨床的・基礎的検討を進める。

### 5. ホームページの充実と患者QOLの改善

診断基準の見直しや専門病院などの掲載によりホームページをさらに充実するとともに、患者・家族会との連携を深め、講演会や相談会を実施するなど、患者のQOLの改善を目指す。

#### (倫理面への配慮)

本調査研究に必要とされる遺伝子解析については、各研究者の所属する機関の倫理委員会の承認を得ている。遺伝子解析に必要となる血液試料の採取にあたっては、遺伝子解析に供すること、そのことが確定診断に必要なこと、結果は本人が特定できるような形では公表しないこと、同意が得られれば不明な責任遺伝子の解明や遺伝子治療の開発のための研究に使用することなど、患者・代諾者の理解を求め、経緯を書面に残すこととした。

## C. 研究結果

### 1. 疫学調査研究

症例の登録推進については、基本的に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方法を踏襲した。患者登録に努め、新規に総計47例(平成17年 17例:男15例、女2例;平成18年度 20例:男12例、女8例、女1例;平成19年度 10例:男8例、女2例)が登録された。昭和48年の本登録事業開始以来の延べ登録数は、男性942例、女性355例、合計1297例となった。

しかし、分担研究者各施設で行われた遺伝子診断例は3年間で223例以上あるにも関わらず登録例が47例に留まっている。そこで、臨床系の分担研究者宛てに、診療にか

かわった症例の一覧を作成することを求めた。患者名、性別、診断名の情報を求め、既登録例の有無、施設間における重複の有無を調査し、少なくとも疾患数の把握を行った。総数387例もの未登録例の存在が明らかとなった。

我が国の原発性免疫不全症候群の疫学が正確な実態により近づけるためにも、今後分担研究者から主治医への登録の一層の勧奨が求められるとともに、遺伝子解析を基盤とした我が国の原発性免疫不全症候群の新たな登録体制を構築することが重要である。

## 2. 簡易診断法の開発と遺伝子解析

臨床の現場で迅速に実施可能な患者診断法として、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法を、1998年に世界で初めてX連鎖無 $\gamma$ グロブリン血症 (XLA) について開発した。その後、同様の簡易診断法を、比較的頻度の高いX連鎖性免疫不全症であるX連鎖重症複合免疫不全症 (XSCID)、X連鎖慢性肉芽腫症 (XCGD)、Wiskott-Aldrich症候群 (WAS)、X連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) について開発し、遺伝子診断の前段階のスクリーニングとして積極的に活用してきた。新たに、アデノシデアミナーゼ (ADA) 欠損症、IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, X-linked) 症候群、NEMO欠損症、*Artemis* 遺伝子変異、XLP亜型のXIAP (X-linked inhibitor of apoptosis) 欠損症やIRAK4 (interleukin-1 receptor-associated kinase 4) 欠損症についても、フローサイトメトリーによる簡易診断法の開発を行った。これらの簡易診断法は、保因者の同定のみならず、血液幹細胞移植後の正着のモニタリングに有用な手段を提供した。

SCIDは早期に診断し造血幹細胞移植を施すことにより救命できる。SCIDを生後早期にスクリーニングする意味で、T細胞受容体の遺伝子再構成時にゲノムDNAから切り出される環状DNA (TREC) をPCR法にて定量する方法を確立した。本法は、先天性代謝異常症のための新生児マススクリーニングに用いられている乾燥濾紙血で実施可能で、マススクリーニングレベルでの将来的な応用に向け、埼玉県、東京都でパイロット的研究を開始した。この結果を踏まえ、将来的には全国的スクリーニング法へと広がることが期待される。

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223例家系 (平成17年度45家系、平成18年度76家系、平成19年度102例) 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。特に、従来原因不明の低 $\gamma$ グロブリン血症とされ、頻度も比較的高い分類不能型免疫不全症 (CVID: common variable immunodeficiency) で責任遺伝子が同定されているのが注目される。この情報を基に、CVIDと診断されていた症例から、*ICOS* 遺伝子変異、*TACI* 遺伝子変異やCD19欠損を同定した。加えて、DNA ligase IV欠損、CD3delta欠損、*Artemis* 遺伝子や*Cernunnos* 遺伝子変異によるSCID、*MRE11* 遺伝子変異によるAtaxia telangiectasia (AT) 類似疾患、肺炎球菌を主体とした易感染性を呈するIRAK4欠損症、*HAXI* 遺伝子変異によるKostmann病等を我が国で初めて同定した。

近年、反復性発熱、リウマチ様症状、多臓器障害を来す自己炎症症候群の責任遺伝子が明らかとなっている。これら責任遺伝子は種々の免疫担当細胞の機能異常をもたらすことより、自己炎症症候群は原発性免疫不全に包括される気運にある。家族性地中海熱、TNF受容体関連周期症候群、CINCA症候群、Muckle-Wells症候群、家族性寒冷自己炎症症候群、若年性サルコイドーシス、Blau症候群などの自己炎症症候群も遺伝子診断した。

## 3. 責任遺伝子、発症機構、病態の解明

XLA、SCID、CGD、高IgM症候群、WAS、CVIDなどの比較的頻度の高い疾患に加え、幾つかの疾患について、我が国における症例の集積を図り、責任遺伝子の解明や発症機構の解明に関わり、臨床的多様性や発症機構を明らかにした。

### 1) 無 $\gamma$ グロブリン血症

無 $\gamma$ グロブリン血症を来す疾患で最も多いのがXLAである。フローサイトメトリーによる簡易診断法と*BTK* 遺伝子解析を併用してXLAと診断された例は平成19年度までに170例を越えた。ここ数年は年間10数例を新たに診断している。重要なことは、臨床的に無 $\gamma$ グロブリン血症を確認しつつも、いまだ遺伝子解析まで10数年以上かかっている例が相当数あることである。教科書的には、XLAは母親からの移行抗体が消失する1歳までに発症するとされる。しかし、1歳までに発症する例は全体の60%であり、1歳までに診断されたものは半数に過ぎなく、診

断の遅れがみられる。10歳以降になり初めて易感染症状を呈する場合があることに注意したい。

臨床的にXLAに酷似し、末梢血B細胞を欠損し無 $\gamma$ グロブリン血症を呈する例は、全体の約15%存在する。これらの一部は、プレB細胞受容体関連分子 ( $\mu$ 重鎖、 $\lambda 5$ 、 $Ig\alpha$ 、 $Ig\beta$ ) やそのシグナル伝達分子 (BLNK、LRRC8) をコードする遺伝子変異により、プロB細胞からプレB細胞へのB細胞初期分化の障害に起因する。本年度も検討を行ったがこれら遺伝子変異をもつ無 $\gamma$ グロブリン症例を我が国において同定できなかった。

## 2) 分類不能型免疫不全症 (CVID)

低 $\gamma$ グロブリン血症で最も多く診断されるのがCVIDである。CVIDでは、通常、末梢血B細胞はある程度存在していて、その病態としてT細胞のヘルパー機能の欠陥に加えてB細胞自体の遺伝的異常が疑われてきた。最近、CVID原因遺伝子として、*ICOS*、*TACI*、*CD19*や*CD21*遺伝子が相次いで同定されている。世界3家系目となる*CD19*欠損症を同定すると共に、CVIDと診断されている例で*ICOS*遺伝子異常や*TACI*遺伝子異常を同定した。

*ICOS*のリガンドであるBh7は、ナイーブB細胞に優先的に発現しているが、II型肺胞上皮細胞にも有意な発現が認められた。ヒトII型肺胞上皮細胞株A549は、*TNF- $\alpha$* の刺激によりBh7の発現の増強が認められ、*ICOS/B7h*相互作用により、*CD4*陽性T細胞の活性化、増殖、*IFN- $\gamma$* 産生を増強した。LPSなどの菌体成分刺激による単球/マクロファージから産生される*TNF- $\alpha$* が、II型肺胞上皮細胞に作用していると考えられた。以上の結果より、肺組織において、*ICOS/B7h*相互作用を介するT細胞/II型肺胞上皮細胞の作用によって、*IFN- $\gamma$* などによる自然免疫システムが肺に侵入する病原体を排除していることが考えられる。*ICOS*の異常は、抗体不全だけでなく肺における感染防御も低下させる可能性が示唆された。

Interferon regulatory factor 5 (IRF5) はIRFファミリー転写因子で、樹状細胞やB細胞で発現がみられる。IRF5ノックアウト・マウスの解析から、IRF5はToll様受容体刺激による樹状細胞からの炎症性サイトカイン産生に重要であることが示されているが、B細胞における役割については不明である。CVID患者の末梢血単核球を用いたマイクロアレイ解析でIRF5の発現が有意に低下しており、ナイーブB細胞でも同様であった。IRF5遺伝子配列には異常がなかったが、B細胞におけるIRF5の発現

制御と機能の解明が患者の病因、病態の理解につながる可能性を考えた。IRF5は*IFN- $\alpha$* のみならず*IL-4*と*CD40*リガンド刺激により相乗的に誘導され、さらにDaudi B細胞株を用いたIRF5-stable transfectantの解析からIRF5がB細胞活性化を直接ポジティブに制御していることが示された。

CVID様成人女性で、*IgG1*受容体の正常B細胞発現を呈する世界的にもまれな*IgG1*欠損症症例を同定した。かぜをひきやすいため近医を受診し、血清*IgG*値の低下を認めた。*IgG*サブクラス検査で*IgG1*欠損がみられたが、他の免疫学的所見に異常はなかった。血清*IgG1*値は、種々の検査法でも検出感度以下であり、その後生まれた男児においても母親からの*IgG1*移行抗体はみられなかった。患者記憶B細胞の一部は、*IgG1*を正常人と同じように表面に発現していた。*in vitro*で患者B細胞は、さまざまな刺激下において*IgG1*を産生した。サザンブロット解析では、重鎖免疫グロブリン遺伝子 $\gamma 1$ を含み欠損はなく、sequence解析では $\gamma 1$ 遺伝子CH1、CH2、CH3領域に遺伝子変異はなかった。また、 $\gamma 1$ 遺伝子のmembranous domain (M1、M2)にも変異はなかった。*IgG1*受容体のシグナルも確認された。Homozygousに新奇な遺伝子変異があり、母親も保因者であった。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と考えられる。

原因不明のCVIDはまだ多い。CVIDの新たな責任遺伝子を同定する目的で、SNP chip assayを用いた新たな検索を試みた。症例はCVIDの診断を受けている男性で、6親等の血族婚家系であり、SNP chip assay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) を同定した。これらの部位には遺伝子としては300遺伝子以上を含まれており、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、血族婚家系のある症例でのSNP chip assayによる解析の蓄積により、CVIDの責任遺伝子同定につながる可能性が考えられる。

## 3) 選択的IgA欠損症

選択的*IgA*欠損症は血清学的には*IgA*が単独に低値を示すが、家系の解析より遺伝学的にCVIDと共有することが知られていた。最近、CVIDに加えて選択的*IgA*欠損症にあって*TACI*遺伝子異常が報告された。そこで、*IgA*欠損の病態を明らかにするため、*TACI*を含めCVIDで遺伝子変異が発見されている*BAFF-R*、*APRIL*、

BAFF-R等のTNF- $\alpha$ ファミリーの遺伝子解析、さらに、IgA1、IgA2サブクラスの遺伝子、タンパク発現の検討をおこなった。対象とした症例では選択的IgA欠損症、低IgA血症ともに*TACI*、*BAFF-R*、*APRIL*、*BAFF-R*遺伝子に病因となる変異は同定できなかった。1例のIgA欠損症を除き、健康人、IgA欠損症ともに末梢血単核細胞のIgA1遺伝子の発現はIgA2より高値であった。この1例のIgA定常部遺伝子を解析したところIgA1遺伝子が欠失しており、本邦2家系目のIgA1遺伝子欠失例であることが明らかになった。

#### 4) 高IgM症候群 (HIGM)

高IgM症候群は、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 (CD40L)*、*CD40*、*AID*、*NEMO*、*UNG*が知られている。国内で集積された84例の解析を行い、女性でありながら、CD40Lの発現異常のためHIGMを呈する2例を同定した。*CD40L*遺伝子はX染色体上に局在するため、通常男性しか発症しない。しかし、1例は染色体の相互転座(46, X, t(X;14)(q26.3;q13.1))により、もう1例は原因不明の理由でX染色体の不活化が偏倚し、変異*CD40L*の存在するX染色体が活性化されたため、発症したと考えられた。また、*AID*遺伝子の異常による常染色体劣性例を3例新たに同定した。更に、*AID*遺伝子の異常をヘテロで持つ常染色体優性遺伝患者を3家系7例同定した。全患者で190番目のアルギニンがストップコドンになる変異で、そのC末7アミノ酸に核排出シグナルが存在することから、変異AIDが核内に蓄積することがヘテロでの発症につながっていると考えられた。これらの患者では、HIGM2患者とは異なり、クラススイッチは障害されているものの、スイッチ領域のDNA二重鎖切断は正常に見られ、免疫グロブリン可変領域の体細胞高頻度突然変異は正常であり、C末に結合する未知の分子がクラススイッチ特異的DNA修復に働く可能性が示唆され、HIGM4の原因を探る上で貴重な所見が得られた。UNG欠損症の発症機序については、生化学的な検討を通して、UNGが変異により機能低下していることを示した。

高IgM症候群はヒトの免疫グロブリンのクラススイッチのメカニズムの解明に有力な手立てを提供している。一般に、免疫グロブリンのクラススイッチ再構成におい

て、スイッチ領域(S領域)に体細胞高頻度突然変異(somatic hypermutation, SHM)が導入される。ヒトIgM S領域へのSHM(Smu-SHM)を解析する新たな方法を確立し、この方法を用いて、in vitroでB細胞のクラススイッチ誘導刺激時にS領域に変異が導入されること、in vivoにおいてメモリーB細胞のSmu-SHMがナイーブB細胞よりも高頻度であることを見いだした。さらに、クラススイッチに障害があり高IgM症候群を呈するAID変異患者、UNG変異患者では、Smu-SHMが障害されていることを示した。このことから、クラススイッチ再構成にAIDとUNGによるDNAへの変異導入が関わっていることが明らかになった。

#### 5) 高IgE症候群

高IgE症候群は、難治性湿疹と血清IgE高値を合併する原発性免疫不全症である。本症候群には、免疫系以外の骨、歯牙などの異常を有する常染色体優性(1型)のもの、免疫系のみで異常を呈する常染色体劣性(2型)のものが知られている。本症候群は、1966年にDavis, Wedgewoodらにより最初に報告されたが、その後の多くの研究にもかかわらず、病態、原因遺伝子は明らかにされていなかった。典型的な常染色体劣性の高IgE症候群(2型)の症状に加え、細胞内寄生菌に対する易感染性を合併する症例の解析からその原因遺伝子の探索を行った。本症例のT細胞は、PMAとionomycinの刺激後、ほぼ正常にIFN- $\gamma$ を産生するにもかかわらず、IL-12とIL-18の刺激後には、全くIFN- $\gamma$ を産生しなかった。IL-12刺激後のSTAT4のリン酸化が完全に欠損しており、さらにIFN- $\alpha$ 刺激後のSTAT4のリン酸化も障害されていた。IL-12とIFN- $\alpha$ の両者のシグナル伝達の異常が存在することから、Jakファミリーの細胞内チロシンキナーゼTyk2の欠損が想定された。遺伝子解析の結果、Tyk2のコーディング領域に4ベースの欠失があることを見出した。この遺伝子異常により、Tyk2のタンパクは、全長1187アミノ酸のうち、コドン90がストップコドンとなり、Tyk2の機能的に重要と考えられるすべてのドメインを欠失していた。以上から、*Tyk2*遺伝子変異が2型高IgE症候群を呈することを世界で初めて明らかにした。

さらに、2型高IgE症候群の責任遺伝子Tyk2の発見を契機にして、1型の高IgE症候群のサイトカインシグナル伝達の検討を行い、その原因遺伝子の同定を試み、1型高IgE症候群の責任遺伝子STAT3を世界に先駆け発見



した。高IgE症候群の原因としてTyk2欠損症と*STAT3*異常症を同定したことは、高IgE症候群がmultiple cytokine signal defect病である可能性を強く示唆しており、いまだ原因が同定できていない高IgE症候群においても同様の遺伝子異常が原因となっている可能性が示唆された。

#### 6) 重症複合免疫不全症 (SCID)

SCIDは、細胞性免疫と液性免疫双方が共に著しく障害され、造血幹細胞移植などの根治療法が施さなければ乳児期に重症感染症によって致死的となる。SCIDの約半数以上は末梢血B細胞を認め、共通 $\gamma$ 鎖の異常によるX連鎖SCIDである。残りの半数はB細胞が欠損しDNAの切断や接続に関与するRAGやArtemisの異常である (B細胞欠損型SCID)。B細胞欠損型SCIDの原因は、RAGの異常は少なく、多くはArtemisの遺伝子変異である。わが国で同定したArtemis変異SCID 5例の診断と造血幹細胞移植成績について検討した。Artemis変異は一般にExon skipが多く、Exon 3欠損2例、Exon 3欠損/2塩基挿入、Exon 3欠損/不明1例、そして新たにExon 1、2欠損1例を見出した。造血肝細胞移植前処置は、前処置なし1例、エンドキサンを主体とした従来の方法3例、1例はフルダラビン主体のミニ移植を行った。2例は、サイトメガロウイルス感染と肺障害で死亡、3例は順調に経過しているものの、1例でドナーT細胞の肺浸潤がみられる。体細胞にArtemis変異があるものの悪性腫瘍などの合併症はみられていない。

Omenn症候群は、臨床的に好酸球増多、紅皮症様の全身皮膚の炎症、体重増加不良などを特徴とし、*RAG*遺伝子のミスセンスによるSCIDの特殊型である。XSCIDにあってもOmenn症候群類似の臨床像呈することを明らかにした。症例は、家族歴ならびに遺伝子解析より共通 $\gamma$ 鎖欠損による典型的なXSCIDであった。患児末梢血中ではNK細胞が著しく増加、その半数はCD<sup>56</sup><sup>bright</sup> CD16<sup>-</sup>亜群であった。皮膚組織の検索では、炎症局所に単球ならびに樹状細胞、CD<sup>56</sup><sup>bright</sup> CD16<sup>-</sup>細胞が多数浸潤し、NK細胞と樹状細胞は真皮内に混じって集簇しており、これらの細胞の間に密接な相互作用があることが推測された。NK細胞が樹状細胞との接触により共通 $\gamma$ 鎖非依存性に活性化される、代替活性化経路を有することを示すと考えられた。

SCIDの1型の細網異形成 (RD:reticular dysgenesis)

は、新生児期に発症するリンパ球及び好中球減少を主徴とし、原因はリンパ球と好中球に共通の造血幹細胞の異常によると考えられている。我が国の全国登録でも過去に1例の報告があるのみの極めて稀な疾患であるが、その原因が解明されていない。日齢2に末梢白血球数1500/ $\mu$ l (好中球120/ $\mu$ l、リンパ球1020/ $\mu$ l)のため、先天性造血不全症候群が疑われた女児例で、母親から経胎盤移行したCD8<sup>+</sup>T細胞が患児の好中球造血能を抑制し、RDの病像を示したと考えられた。本児はHLA一致の兄より同種骨髄移植を行い、完全キメラとなり、免疫能、好中球造血能とも順調に改善したが、その後、難聴の合併が明らかとなった。本例では*IL-7R $\alpha$* 、*CD3 $\delta$* 、*CD3 $\epsilon$*  および*JAK3*遺伝子異常はなく、RDと分類されていた症例の中に難聴を伴う新たな一群が存在する可能性が示唆された。

#### 7) Wiskott-Aldrich症候群 (WAS)

WASは、小型血小板を伴う血小板減少、難治性湿疹、易感染性を3主徴とする伴性劣性遺伝形式を示す原発性免疫不全症である。その責任遺伝子は*WASP*であるが、*WASP*遺伝子異常による表現型としてWAS以外にX連鎖血小板減少症とX連鎖好中球症が知られており、これらの疾患に骨髄異形成症候群 (MDS) を合併した例の報告もある。しかし、*WASP*遺伝子異常では小型血小板を伴う血小板減少以外に血液像に関する詳細な報告はこれまでなかった。出生時から血小板減少を示し、乳児期早期より末梢白血球と単球の増加、巨大血小板を伴う血小板減少、末梢血中の芽球の出現を認め、若年性骨髄単球性白血病 (JMML) と診断された男児2例において、アトピー性皮膚炎様湿疹の出現からWASを疑い、*WASP*遺伝子の解析によりWASの診断に至った。近年WASに骨髄異形成症候群 (MDS) を合併した症例の報告もあり、*WASP*遺伝子異常の表現型としてJMML/MDS様疾患が存在する可能性が示唆された。JMML/MDS様疾患が疑われる男児において、出生時から血小板減少を認める場合はWASを鑑別診断として考慮すべきである。

*WASP* 遺伝子変異の一つとして知られるL270P *WASP*は活性型変異であるが、この変異でなぜ好中球減少がおこるかについての分子機構は十分に解明されていない。活性化型*WASP*変異がLckなどのチロシンキナーゼで容易にリン酸化されることを示した。このことからY291のリン酸化がおこると顆粒球産生に重要な分子が誘

導され、細胞の生物学的活性が変わると予想された。そこで、Gene chipを用い活性型変異L270P WASPの影響をK562細胞で調べた。Gene chipとRT-PCRの結果から、野生型WASPを安定に発現させたK562細胞ではG-CSF受容体の発現誘導が認められたのに対し、L270P WASPを発現させた細胞ではG-CSF受容体の発現誘導は認められなかった。

#### 8) Ataxia telangiectasia (AT)

ATは、免疫不全症に分類されるが、小脳失調が初発症状であり、毛細血管拡張を認める年齢が6歳前後であることから、確定診断が遅れることが多い。わが国のAT症例の実態を明らかにするために、全国の小児科、神経内科、神経専門施設(661施設、1223部局)にアンケート調査を行い、663部局(54.2%)から回答が得られた。1次アンケートから把握された患者数は87名であり、そのうち74名が小児科で、13名が神経内科にて診療を受けていた。小脳失調は全例で認め、86%で毛細血管拡張を、54%に易感染性を認めた。耐糖能異常や低身長を示す症例があった。検査では92%で $\alpha$ -fetoproteinの上昇を、70%でIgGサブクラス異常が観察された。今後、2次アンケートを実施し、詳細な症状・臨床所見を把握し、その解析から問題点を抽出して、疾患の認識向上、病態の理解につなげ、早期診断法や治療法について検討する予定である。2次アンケートでは、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。HIGMを呈する患者、低 $\gamma$ 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。また今後ホームページを立ち上げ、情報を発信する場を提供する予定である。

ATの原因遺伝子であるATMは2本鎖DNA切断修復において重要な役割を果たしている。2種類の2本鎖DNA切断修復機構(非相同末端結合(NHEJ)、相同組換え修復(HR))と神経系発達との関連およびATM蛋白質、p53蛋白質との関係を調べるため、NHEJ欠損マウス(DNA ligase IV欠損)とHR欠損マウス(Xrcc2欠損)を使用し、それらの発達期大脳皮質における神経細胞死を比較、2種類の2本鎖DNA切断修復機構が神経系発達におよぼす影響について検討した。その結果、ATMは分

裂後早期の神経細胞がアポトーシスをおこすために重要であることが示唆され、増殖期の細胞がアポトーシスを起こす過程には重要ではないことを明らかにした。また、基礎的解析からは、これらのDNA損傷修復に関与する分子が、悪性腫瘍前段階では活性化し、腫瘍化すると活性が低下すること、一部ではその際にp53変異が導入されていることなどを明らかにした。

#### 9) 慢性肉芽腫症 (CGD)

gp91phoxはCGDの最も多い病因蛋白であり、活性酸素を産生する酵素の中心をなす膜蛋白質である。gp91phox遺伝子変異の同定されるCGDの大部分は蛋白発現を欠損しているが、一部(約30%)で蛋白発現が見られる。gp91phox発現と機能異常との関係を明らかにするため、gp91phox蛋白陽性のCGD患者の遺伝子解析を行った。その中で、CYBB遺伝子のエクソン6に6 baseのDuplicationで2アミノ酸の繰り返し挿入が認められた変異で新規な機能ドメインの障害を示す慢性肉芽腫症症例を見いだした。この変異gp91phoxを遺伝子導入した活性再構成実験でも活性がないことが確認された。

XCGDの13歳男児例の顆粒球において、殺菌能、gp91phox発現、CYBB遺伝子配列のいずれもが正常の分画が存在することを見いだした。患者で樹立したEBウイルス不死化B細胞株においても同様であり、少なくとも血球系の複数のlineageで正常細胞分画が存在する可能性が考えられた。2歳時から現在までの正常ROB活性をもった顆粒球分画にはほとんど変化がなく、正常細胞がCYBB遺伝子変異を有する細胞に対してgrowth advantageを持たないことが、本患者の長期的な観察から改めて確認された。XCGDは原発性免疫不全症のなかで最も頻度の高い疾患の一つであるが、このような例は今まで報告されていない。わずかな正常細胞分画が見逃されている可能性とともに、この現象が非保因者からのde novo変異という限られた状況でのみみられる可能性も考えられた。

XCGDの保因者の正常好中球数が、10~30%で日光過敏症、discoid lupus、口内炎、5~10%で易感染性、5%未満で重症感染症をきたすといわれている。また、女性には父由来と母由来の二つのX染色体アレルが存在し、加齢などにより時に一方の正常アレルがノンランダムに不活化され女性保因者がCGDを発症する原因の一つと考えられている。このような成人発症女性X連鎖CGDは世

界で4例ほど報告されているのみである。わが国初となる成人女性発症のX連鎖CGDを同定した。

#### 10) 白血球粘着異常症

白血球粘着異常症1型は、 $\beta 2$ インテグリン (CD18) の欠損による食細胞不全症で、重症細菌感染症の反復、白血球異常増多、臍帯脱落遅延、創傷治癒遅延を特徴とする。遺伝子変異のreversionを認めた乳児例を世界で初めて見出した。患児は、ITGB2 (CD18) 遺伝子にスプライス変異 (G>A(+1), intron4) と一塩基欠失 (674delC) をもつ複合ヘテロ接合体であり、単球や顆粒球においてはCD18、CD11b、CD11cの発現は全く認められなかった。しかし、患児リンパ球のごく一部でCD18<sup>+</sup>細胞が認められた。同細胞は、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞で、T細胞受容体V $\beta$ 22を有するシングルクローンであった。患児への母体血の混入は否定され、父親由来のスプライス変異が消失していたことより、患児の1つのCD8<sup>+</sup>T細胞においてreversionが起きたと考えられた。

#### 11) 重症先天性好中球減少症

重症先天性好中球減少症 (SCN) は、乳幼児期からの慢性好中球減少、骨髓顆粒球系細胞の低形成、骨髓球～前骨髓球の段階での成熟障害を特徴とする先天性免疫不全症である。本疾患の責任遺伝子として、*ELA2*、*HAX1*、*GFI1*、*MAPBP1P*、*WAS*が報告されている。我が国におけるSCN患者の遺伝学的背景を明らかとするため、SCN患者18人を対象に遺伝子解析を行った。その結果、*ELA2*異常症が11人、*HAX1*異常症が我が国で初めて5人同定した。重要なこととして、*HAX1*異常症患者は、全例が精神運動発達遅滞を合併していた。さらに*HAX1*遺伝子のR86Xホモ接合性変異を持つ患者は、全例で難治性の痙攣発作を認めた。これらの結果から本邦のSCN患者は、*ELA2*異常症が約60%、*HAX1*異常症が約30%を占めること、*HAX1*異常症ではR86X変異が好発変異であり、好中球減少以外の症状として神経学的異常の合併が認められることを明らかとした。

#### 12) IRAK4欠損症

IRAK4はToll様受容体やIL-1受容体のシグナル伝達に必要な分子である。IRAK4欠損症はグラム陽性球菌、特に肺炎球菌を主体とした易感染性を示し、加齢とともに易感染性が軽減する例も多いが、重症感染症で死亡する例も報告されている。肺炎球菌に対して易感染性を呈した男児がIRAK4欠損症であることを我が国で初めて明

らかにした。その弟も遺伝子診断の結果IRAK4欠損症であり、兄弟とも臍帯脱落遅延が認められ、臍帯脱落遅延がIRAK4欠損症の1症状である可能性が示唆された。兄は2歳時に肺炎球菌による化膿性髄膜炎にて死亡しており、早期診断および感染症予防が重要であることが確認された。IRAK4欠損症ではToll様受容体に対する反応性が低下することの結果を基に、フローサイトメータによりIRAK4迅速スクリーニングの可能性を明らかにした。IRAK4欠損症の国際共同研究により、肺炎球菌による重症感染症が極めて多いこと (79%)、さらにそれを再発していること (59%)、IRAK4欠損症患者の約半数が感染症で死亡していること、8歳以上では死亡例はなく、14歳以上では重症感染がないことなどが明らかになった。IRAK4欠損症では乳幼児期の重症感染症を予防することが極めて重要であることが再確認された。

#### 13) 自己免疫性リンパ増殖症候群 (ALPS)

ALPSはCD95誘導性細胞死の欠失により、リンパ節腫脹、脾腫、double negative T (DNT)細胞の増加、高 $\gamma$ グロブリン血症、自己免疫疾患の合併を認めるが、CD95誘導性細胞死が正常で遺伝子異常を認めないALPS III型が存在する。DNT細胞の増加 (2%以上)、自己免疫疾患の合併、CD95誘導性細胞死正常からALPS型と診断した日本人症例6例においてCD95遺伝子異常のモザイクを解析した。5例ではCD95、caspase-8、caspase-10に遺伝子変異を認めなかったが、1例のDNT細胞分画においてCD95遺伝子のintron 7 + 1 G→Aによるexon 7 mRNA欠失を認めた。変異特異的PCR法による解析から、変異細胞の存在比率は、DNT細胞は100%、末梢血リンパ球分画、顆粒球、赤芽球、骨髓CD34<sup>+</sup>細胞では約1-10%であり、ALPS type Imと診断した。さらに口腔粘膜上皮細胞、骨髓繊維芽細胞においても約1%変異細胞が存在し、胚細胞分裂時に発生したde novo CD95遺伝子変異による現時点で報告のないALPS type Imと考えられた。発症年齢、DNT細胞比率、血清可能性CD95L、可能性IL-2R濃度はtype Im症例において典型的type Ia症例のものと同様で、type III症例とは異なり、臨床的にtype Im型を推測する指標と考えられた。

#### 14) NEMO遺伝子異常とベーチェット病

*NEMO*遺伝子異常により、X染色体連鎖外胚葉形成不全免疫不全症候群および色素失調症がおこる。ベーチェット病と診断された2名の患者 (女兒およびその母) に

*NEMO*遺伝子異常を確認した。母子とも小児期に腸管ペーチェットを発症した。母子とも生下時より脱色素性皮疹を認めたが、典型的な色素失調症の皮疹ではなかった。患児の兄が外胚葉形成不全免疫不全症候群であったため、*NEMO*遺伝子異常の有無を検討したところ、Exon10に相当する箇所にAspがValへのアミノ酸置換を伴う遺伝子変異を認め、これは外胚葉形成不全症で報告されているものと同一のものであった。これまでも色素失調症にペーチェット病が合併した症例の報告があり、*NEMO*遺伝子がペーチェット病の発症に関与しているものと考えられた。

#### 15) 自己炎症症候群

近年、TNF受容体関連分子およびシグナル分子の異常が自己炎症症候群を呈することが明らかにされている。責任遺伝子が免疫機能分子であることより原発性免疫不全症として扱われ、発熱や炎症症状を反復することより易感染性を呈する古典的免疫不全と鑑別の上で問題となる。我が国における自己炎症症候群の実態を検討する意味で、全国の小児科専門施設（559施設）にアンケート調査を行い、377部局（67.4%）から回答が得られた。1次アンケートから把握された患者数は57名であり、今後2次調査で責任遺伝子解析の有無など詳細に検討を行う予定としている。予備的に、本調査研究班で経験している例で臨床的、基礎的検討を行った。

*CIAS1*遺伝子の異常によって自己炎症症候群の一つであるCryopyrin-associated periodic syndrome (CAPS)が起こる。CAPSには家族性寒冷自己炎症性症候群、Muckle-Wells症候群、CINCA症候群がある。CINCA症候群は、慢性髄膜炎に伴う中枢神経障害、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一つである。約40%の症例に責任遺伝子*CIAS1*の変異を認めないことが知られている。*CIAS1*遺伝子変異を検出できなかったCINCA症候群3例、Muckle-Wells症候群1例のCAPS4症例を集積し、*CIAS1*モザイズムの有無を検討した。*CIAS1*変異陽性細胞を濃縮する方法としては、同細胞がLPS刺激で細胞死に陥る性質を利用した。結果として4例中3例に*CIAS1*モザイズムを認めた。*CIAS1*モザイズムはCINCA症候群等のCAPSの発症において重要な役割を果たしていることがわかった。

*CIAS1*変異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。

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か月の男児に関して、乳頭浮腫、慢性髄膜炎を呈していたことからCAPSを疑い、*CIAS1*遺伝子を検出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。

最近、CAPSに対してIL-1受容体拮抗薬であるanakinraの有効であるとの報告がある。Muckle-Wells症候群1例にanakinraの使用を試みた。症例は、繰り返す発熱、蕁麻疹様の発疹、結膜炎、関節炎、感音性難聴などの臨床症状からMWSと診断した8歳女児。検査所見ではC-reactive protein (CRP)、血清アミロイドAおよびIL-1 $\beta$ が高値であり、*CIAS1*遺伝子においてアミノ酸変異R260Wを認めた。患者の単核球を培養すると無刺激下でもIL-1 $\beta$ の著明な産生がみられた。IL-1受容体拮抗薬のanakinraで治療したところ、CRP、血清アミロイドAおよびIL-1 $\beta$ の値は正常化し、IL-1 $\beta$ の産生が高まることなく臨床症状は消失したが、患者の単核球は活性化されたままであるように見えた。重要なことに感音性難聴も完全に改善した。

#### 16) IPEX症候群

IPEX症候群は、*FOXP3*遺伝子変異により、FOXP3陽性制御性T細胞の欠損を起因として多臓器にわたる自己免疫を引き起こし、乳児早期から始まる重症下痢症によりしばしば致命的となる重篤な疾患である。マウス抗ヒトFOXP3単クローン抗体を用いてCD4<sup>+</sup>T細胞亜群におけるFOXP3の発現をフローサイトメトリーにて解析したところ、健常者ではFOXP3陽性細胞の大部分はCD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞に属し、CD4<sup>+</sup>T細胞に占めるFOXP3陽性細胞の比率は乳児から成人まではほぼ一定（4-5%）であったが、日齢0（臍帯血）でのみ有意に低値（2.87%）であっ

た。乳幼児期早期におけるFOXP3陽性CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T細胞は主にCD45RA陽性細胞で認め、加齢と共にCD45RO陽性細胞が優位となっていた。FOXP3遺伝子変異が同定されIPEX症候群と診断された4例では全例でFOXP3陽性細胞は検出されなかった。従って、このフローサイトメトリーによるFOXP3陽性細胞の解析はIPEX症候群の簡易診断法と有用と考えられた。興味あることに、フレームシフト異常のある患者では、典型的なIPEX症候群の症状、T細胞の異常な活性化が認められたが、ミスセンスの患者では臨床症状、T細胞の活性化は軽微であり遺伝子変異の種類と臨床症状の違いに相関がある可能性が示唆された。

#### 17) 補体欠損症

補体の第3因子(C3)は補体活性経路の中で重要な位置にあり、その先天性の欠損は易感染性、SLE様の症状など多彩な症状を呈するまれな疾患である。学校検尿で異常を認めた7才男児が血液検査のスクリーニングをうけ、C3が0 mg/dlと著減していること、両親が血縁関係にあることから、易感染性、SLE様症状などはなかったが、遺伝性C3欠損症が疑われた症例の解析を行った。遺伝子解析の結果、患児ではExon 29に二塩基欠失をホモで、両親はヘテロ認め、遺伝性C3欠損症と診断した。

#### 18) その他

IFN- $\gamma$ やIL-12はTh1分化において重要な働きをもっている。近年、IFN- $\gamma$ /IL-12経路の異常により、抗酸菌、サルモネラなどの細胞内寄生菌に対してのみ易感染性を呈する疾患群の存在が明らかとなり、これまで5つの遺伝子(*IFNGR1*、*IFNGR2*、*IL12RB1*、*IL12B*、*STAT1*)の関与が報告されている。IFN- $\gamma$ 受容体1(IFN $\gamma$ R1)異常症は、IFN- $\gamma$ /IL-12経路異常症の1つで、多発性骨髄炎を代表的症状とし比較的臨床症状の軽度な常染色体優性遺伝のものと、重篤な多臓器の感染症状を呈し、症例によっては造血幹細胞移植が考慮される常染色体劣性遺伝のものがある。多発性骨髄炎を呈した患者において、IFN $\gamma$ R1の責任遺伝子*IFNGR1*に新規変異を同定し、常染色体優生遺伝を呈するIFN $\gamma$ R1異常症と診断した。

ウイルス核酸の受容体であるToll様受容体TLR3、TLR7、TLR9とこれらの機能を制御しているUNC93B1について、熱性けいれん発症との関連を明らかにするため、一塩基多型(SNP)を用いて患者対照研究を行った。

UNC93B1のイントロン7にあるrs308328において、熱性けいれん患者のGアレルの頻度(36.8%)が対照(29.7%)と比べ有意に高かった。サブグループの解析では、複雑型(41.4%)と対照との間にGアレル頻度の有意な違いがあり、単純型では違いはなかった。ハプロタイプ解析でも有意差を認めた。*TLR3*、*TLR7*、*TLR9*遺伝子多型については、熱性けいれん患者対照間に有意な違いを認めなかった。*UNC93B1*遺伝子が熱性けいれん特に複雑型に関連することが示唆された。*UNC93B1*は家族性単純ヘルペス脳炎の原因遺伝子であることが最近報告されている。ウイルスの直接侵襲による炎症性病変が、熱性けいれん特に複雑型の病態に関与している可能性が示唆された。

### 4. 治療法の改良と遺伝子治療

#### 1) 無/低 $\gamma$ グロブリン血症における静注用免疫グロブリン製剤の用量見直し

無/低 $\gamma$ グロブリン血症を呈する抗体産生不全症の主たる治療は静注用免疫グロブリン製剤による補充療法にある。免疫グロブリン補充療法により入院を必要とする重症感染がかなり減りつつあるものの、加齢につれ気管支拡張症などの慢性肺疾患による肺機能の低下でQOLが著しく低下する症例がみられ、世界的にも投与量は高用量となっている。しかし、現行の静注用免疫グロブリン製剤の添付文書では低用量のままであり、県によっては保険の審査のしばりがあるとの患者の訴えをしばしば聞く。そこで、平成17年度に本調査研究班と日本小児感染症学会とで、時代にあった添付文書の改訂を厚生労働省に要望し、静注用免疫グロブリン製剤販売業者から成る日本血液製剤協会・技術協会が「用量・用法の変更」に向け対応し、厚生労働省との協議が進んできた。平成20年3月に、日本血液製剤協会・技術協会から「用量・用法の変更」について、医薬品医療機構に最終案を提出した。近々に時代にあった高用量の免疫グロブリン補充療法が可能となり、抗体産生不全症の患者・家族が安心して治療を受けることができることが期待される。

#### 2) 造血幹細胞移植

原発性免疫不全症の唯一の根治療法として、骨髄移植や臍帯血移植などの造血幹細胞移植は欠かすことができない。とりわけ、SCID、WAS、XHIGMおよびCGDでは治療の優先的な選択肢として造血幹細胞移植が考慮さ

れる。しかし、わが国における原発性免疫不全症候群に対する造血幹細胞移植は多くの施設で行われており、統一したレジメもなく、治療成績などを含めた実態は明らかでない。全国の施設から過去の実施例を集積・解析し、造血幹細胞移植の治療成績の向上を目指し、個々の疾患に則したレジメの作成に着手した。まず、原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植について全国アンケート調査を行った。全国の小児科を標榜する559施設にアンケートを送ったところ342施設(61.2%)から回答が得られた。造血幹細胞移植数についてはSCIDが100例、WASが57例、X連鎖HIGMが19例、CGDが34例、その他が10例であった。

#### a) SCIDに対する造血幹細胞移植

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、免疫グロブリン投与が不要となった9例のうち前処置を行なった例が8例であったが、免疫グロブリン投与を必要としている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例全例が免疫グロブリン投与を離脱できていた。以上の結果をもとに、治療ガイドライン案の策定を試みた。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一致同胞がいない場合、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、フルダラビン(Flu) 125mg、メルファラン80mgを推奨される。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た。3か月未満で発見された場合は、前処置の毒性を考慮し、3か月まで無菌管理を行ないつつ待つのが望ましい。Omenn症候群では、今回の検討では症例数が少なかったため結論は出せないが、現時点でエビデンスのある骨髄破壊の前処置(RIST)が勧められる。

#### b) WASに対する造血幹細胞移植

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WAS57人の解析を行った。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例が拒絶に至り、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、ブスルファン(BU)およびシクロホスファミド(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以外の前処置が正着不全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。

#### c) CGDに対する造血幹細胞移植

2006年末までに国内で実施された、CGDに対する造血幹細胞移植32例について検討した。移植ドナーとしては骨髄(26例; HLA一致同胞12例[1例死亡]、HLA一致非血縁8例、HLA不一致6例[1例拒絶、2例死亡])、臍帯血(3例[2例死亡])、末梢血(3例[1例拒絶、1例死亡])などの幹細胞が採用されていた。前処置には、初期にはBU+CY前処置(12例、内4例死亡)が、最近ではCY+Flu前処置(14例、死亡例なし)が多くなっていた。移植後の経過に長短はあるが、生存者25例についてのperformance statusも概ね良好で、慢性GVHDもGVHDなしが19例、limited typeが7例、extensive typeが1例であった。全体としては、1)移植時点で難治性感染症を有していた群は、成績不良と考えられた。2)HLA一致同胞骨髄、HLA一致非血縁骨髄はほぼ同等の好成績であった。3)CY+Flu前処置では全例生存していた。4)CY+Flu前処置は、その半数(7/14)でdonor lymphocyte infusion(DLI)が実施された。5)DLIは、非血縁者間移植では難しい場合があり、現在の前処置法にさらなる工夫が必要だと思われる。これらの結果を踏まえて、1)移植前に可能な限り感染病巣を鎮静させ、2)ドナーはHLA一致ドナー(同胞・非血縁を問わない)を第1選択とし、3)前処置はRISTを選択する。4)移植後の混合キメラ状態に対してはDLIを考慮する

慢性肉芽腫症患者への骨髄移植ガイドライン案を作成した。

### 3) 安全性を高めたXSCIDに対する遺伝子治療の開発

これまでにフランスおよびイギリスにおいて行われてきたXSCIDに対する遺伝子治療では、その多くの症例で免疫系の再構築が得られ、有効性が確認されている。しかし、その後15例中3例で、レトロウイルスベクターの遺伝子挿入変異によるリンパ性白血病が発症した。万が一発症した場合でも癌化した細胞を排除できるように自殺遺伝子Herpes simplex virus thymidine kinaseを治療用の $\gamma$ c鎖と同時に発現するレトロウイルスベクターを開発しその有用性を検討した。XSCID患者から樹立したB細胞株にそのベクターを遺伝子導入したところ機能的な $\gamma$ c鎖を発現すること、また抗ウイルス薬であるガンシクロビルによって遺伝子導入細胞のみを選択的に死滅させることができることを確認した。さらにこのベクターを用いてXSCIDマウスの遺伝子治療を行ったところ、 $\gamma$ c鎖を発現したリンパ球の回復が認められた。これらのリンパ球は*in vitro*でガンシクロビルに高い感受性を示し、*in vivo*でもガンシクロビルの腹腔内投与によりマウス体内から選択的に消失した。

## 5. ホームページの充実と患者QOLの改善

常時、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に努めた。また、患者・家族会では講演や医療相談に親身に参画した。患者・家族会の永年の悲願であった静注用免疫グロブリン用量の見直しについて、平成17年度の患者・家族会からの厚生労働省への嘆願を受け、厚生労働省に研究班と日本小児感染症学会で厚生労働省に要望書の提出し、静注用免疫グロブリン取り扱い業者と厚生労働省の間で協議が進んできた。また、患者・家族会の恒久的な活動の運営のためにNPO法人化へ向けの助言をし、平成20年中にNPO法人化へ向けての患者・家族会への援助を行った。原発性免疫不全症候群は比較的可成りな疾患であることより、患者・家族にとって安心して治療に専念できる専門病院情報に対する希望が強い。そこで、小児科を標榜する全国の施設に専門病院として開示が可能か否かを問い合わせ、66施設を原発性免疫不全症候群の専門病院として担当医と連絡先を付してホー

ムページに掲載した。また、個々の疾患の確定診断に必要な遺伝子診断の可能な29施設をホームページに掲載した。

## D. 考察

近年の免疫基礎医学の目覚ましい進歩により、20世紀後半から、原発性免疫不全症候群に含まれる疾患の多くの責任遺伝子が判明し、個々の疾患の確定診断に遺伝子解析は欠かせない。一方、本調査研究班で開発しているフローサイトメトリーを用いた簡易診断法は、臨床の現場で短時間に実施可能であり、早期診断に大きく寄与している。このような簡易診断法は、XLAを始めいくつかの疾患について、遺伝子解析前のスクリーニングとして普及した。遺伝子解析にはついては、責任分担を明確とし、ホームページを介して主治医、患者・家族からの要望に親身に対応してきた。このような連携体制により培われた症例の蓄積が、病態の解明や新規責任遺伝子の同定の糸口を開くものと考えられる。その一つの成果として、永年原因不明であった常染色体優性高IgE症候群（1型）と常染色体劣性高IgE症候群（2型）の責任遺伝子が、それぞれ*Tyk2*と*STAT3*であることを世界に先駆けて発見できたことが挙げられる。

原発性免疫不全症候群の臨床的・基礎的解析は、病態の解明や治療法の改善のみならず、免疫機能分子のヒトにおける生物学的役割を明らかにするものであり、本調査研究班での症例検討は学術面で少なからず貢献するものと考えられる。我が国を発進地として開発した簡易診断法は国際的にもインパクトを与え、技術提供、国際共同研究と発展した。社会的意義として、遺伝子解析を含め早期診断が可能であるとの主治医、患者・家族からの信頼を得ている。

本調査研究班の責務の一つに、臨床個人調査票を活用した患者登録事業があるが、登録については遺伝子診断例も含め主治医に登録を促すという形で行われてきた。しかし、遺伝子診断例が登録例を大きく越えている。この問題点を解決するため、さらには、本邦における原発性免疫不全症候群の真の発生状況を明らかにするためにも、インターネットを介した登録の実施、疫学調査担当者や遺伝子解析担当者との円滑な連携プレー、臨床個人調査票との対比作業など、新たな登録システムの確立が望まれる。

原発性免疫不全症候群の多くの責任遺伝子はまだ明らかでない。本調査研究班で蓄積された症例の更なる病態解明により、新たな責任遺伝子の同定やその生物学的意義を明らかにでき、簡易診断の開発にも繋がるものと期待される。

本調査研究班の主要な責務は、治療法向上などによる患者QOLの改善にある。原発性免疫不全症候群に含まれる疾患は100以上と多岐にわたり、また、比較的まれであることより、患者・家族や主治医からの正確な診断や適切な治療に対する要望が強い。これに対して、患者の実態調査、一層の役割分担を明確にした連携、時代にあった診断基準の見直し、個々の疾患に則した治療方針の見直し、造血幹細胞移植のレジメ作成やガイドラインの提案、遺伝子治療の拡大、患者・家族に分かりやすい専門病院の整備を進める必要がある。

#### E. 結論

本調査研究では、原発性免疫不全症候群に含まれる疾患の診断や治療に結びつく臨床的基礎的調査研究を実施した。つまり、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、5) ホームページの充実と患者QOLの改善を掲げ、分担研究者の連携を密に尽力した。得られた成果を生かした今後の調査研究の活用や展開が望まれる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

和文原著 84編  
英文原著 307編

##### 2. 学会発表

国内 630件  
国際 126件

#### H. 知的所有権の出願・取得状況

##### 1. 特許取得

・免疫グロブリンIgAクラススイッチング剤 (特願2007-274783)、国立大学法人富山大学、発明者：宮脇利男、

Mostafa Sira、今中常雄、水口峰之、金兼弘和

・22q11.2欠失症候群の診断装置、ダウン症候群の診断装置 (特願2000-185976)、発明者：井原健二、原 寿郎 承認(2006.11.10)

・Application of synovium-derived mesenchymal stem cells (MSCs) for cartilage or meniscus regeneration (米国国際特許出願中YCT-1301)、出願人：関矢一郎、発明者：宗田大、森尾友宏、清水則夫、黒岩保幸

・造血幹細胞移植後の生着安定組成物、該組成物を得るためのキット、造血幹細胞移植後の生着安定方法、ならびにヒトモノクローナル抗体あるいはヒトポリクローナル抗体の製法 (特願2004-138468) 出願人：黒岩保幸、発明者：関根暉彬、森尾友宏、清水則夫、馬場憲三

・腫瘍・感染症および自己免疫疾患の予防・治療用HLA一致他人由来活性化リンパ球および該リンパ球を主成分とする製剤ならびに該製剤の製造方法、該製剤調製用キット (特開2004-2312) 出願人：黒岩保幸、発明者：関根暉彬、森尾友宏、清水則夫、馬場憲三

・標的核酸の検出法 (特願2003-164799)、出願人：清水則夫、発明者：関根暉彬、森尾友宏、黒岩保幸、馬場憲三

・臍帯血由来活性化リンパ球及び該リンパ球を主成分とする製剤ならびに該製剤の製造方法、該製剤調製用キット (特開2002-171966)、出願人：黒岩保幸、発明者：関根暉彬、森尾友宏、清水則夫、馬場憲三

・Cord blood-derived activated lymphocytes, preparations containing said lymphocytes as main ingredient and method and kit for producing said preparations (US 6,692,958)、出願人：黒岩保幸、発明者：関根暉彬、森尾友宏、清水則夫、馬場憲三

・ヒト胚性幹細胞からの樹状細胞の製造方法 (特願2006-303113)、出願人：国立大学法人熊本大学、田辺製薬株式会社、発明者：西村泰治、千住 寛

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



## Ⅱ 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧

雑 誌

\*印の論文は巻末に別刷記載

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tatebayasi K., Matsui E., Kaneko H., Fukao T., Kasahara K., <u>Kondo N.</u>	IL-12B promoter polymorphism associated with asthma and IL-12B transcriptional activity.	Allergol Int	54	345-349	2005
Fukao T., Fukutomi O., Hirayama K., Teramoto T., Kaneko H., Kondo M., Matsui E., and <u>Kondo N.</u>	Questionnaire-based study on the relationship between pet-keeping and allergic diseases in young children in Japan.	Allergol Int	54	521-526	2005
Kato Z., and <u>Kondo N.</u>	New methods for clinical proteomics in allergy.	Allergol Int	54	531-357	2005
Matsuzaki S., Shinozaki K., Kobayashi N., and <u>Agematsu K.</u>	Polarization of Th1/Th2 gene expression in subpopulations of human CD45RO+CD4+ T lymphocytes distinguished by CD62L.	Allergy	60	780-787	2005
Ishimura M., Ohga S., Nomura A., Toubou T., Morihana E., Saito Y., Nishio H., Ide M., Takada H., and <u>Hara T.</u>	Successful umbilical cord blood transplantation for severe chronic active Epstein-Barr virus infection after double failures of hematopoietic stem cell transplantation.	Am J Hematol	80	207-212	2005
Okano M., Kawa K., Kimura H., <u>Yachie A.</u> , Wakiguchi H., Maeda A., Imai S., Ohga S., Kanegane H., Tsuchiya S., <u>Morio T.</u> , Mori M., Yokota S., and Imashuku S.	Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection.	Am J Hematol	80	64-69	2005
Kanegane H., Ito Y., Ohshima K., Shichijo T., Tomimasu K., Nomura K., Futatani T., Sumazaki R., and <u>Miyawaki T.</u>	X-linked lymphoproliferative syndrome presenting with systemic lymphocytic vasculitis.	Am J Hematol	78	130-133	2005
Horiuchi K., <u>Ariga T.</u> , Fujioka H., Kawashima K., Yamamoto Y., Ikawa H., and Sakiyama Y.	Mutational analysis of the <i>TCOF1</i> gene in 11 Japanese patients with treacher collins syndrome.	Am J Med Genet	134A	363-367	2005
Fujioka H., <u>Ariga T.</u> , Yoda M., Ohsaki M., Horiuchi K., Otsu M., Sugihara T., and Sakiyama Y.	A case of C3 deficiency with a novel homozygous two-base deletion in the <i>C3</i> Gene.	Am J Med Genet	138A	399-400	2005
Mizuki K., Takeya R., Kuribayashi F., Nobuhisa I., Kohda D., <u>Nunoi H.</u> , Takeshige K., and Sumimoto H.	A region C-terminal to the proline-rich core of p47phox regulates activation of the phagocyte NADPH oxidase by interacting with the C-terminal SH3 domain of p67phox.	Arch Biochem Biophys	444	185-194	2005
Fukuma D., Matsuyoshi H., Hirata S., Kurisaki A., Yoshitake Y., Sinohara M., <u>Nishimura Y.</u> , and Senju S.	Anti-cancer immunotherapy with semi-allogeneic embryonic stem cell-derived dendritic cells genetically engineered to express a model tumor antigen.	Biochem Biophys Res Comm	335	5-13	2005
Tabata Y., Villanueva J., Lee S.M., Zhang K., Kanegane H., <u>Miyawaki T.</u> , Sumegi J., and Filipovich A.H.	Rapid detection of intracellular <i>SH2D1A</i> protein in cytotoxic lymphocytes from patients with X-linked lymphoproliferative disease and their family members.	Blood	105	3066-3071	2005

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishii E., Ueda I., Shirakawa R., Yamamoto K., Horiuchi H., Ohga S., Furuno K., Morimoto A., Imayoshi M., Ogata Y., Zaitu M., Sako M., Koike K., Sakata A., Takada H., Hara T., Imashuku S., Sasazuki T., and Yasukawa M.	Genetic subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis: correlations with clinical features and cytotoxic T lymphocyte/natural killer cell functions.	Blood	105	3442-3448	2005
Wada T., Schurman SH., Garabedian EK., <u>Yachie A.</u> , and Candotti F.	Analysis of T-cell repertoire diversity in Wiskott-Aldrich syndrome.	Blood	106	3895-3897	2005
* Wada T., Toma T., Okamoto H., Kasahara Y., Koizumi S., <u>Agematsu K.</u> , Kimura H., Shimada A., Hayashi Y., Kato M., and <u>Yachie A.</u>	Oligoclonal expansion of T lymphocytes with multiple second-site mutations leads to Omenn syndrome in a patient with RAG1-deficient severe combined immunodeficiency.	Blood	106	2099-2101	2005
Sato T., Kobayashi R., Nakajima M., Iguchi A., and <u>Ariga T.</u>	Significance of eosinophilia after stem cell transplantation as a possible prognostic marker of favorable outcome.	Bone Marrow Transplant	36	985-991	2005
Kanegane H., Kasahara Y., Okamura J., Hongo T., Tanaka R., Nomura K., Kojima S., and <u>Miyawaki T.</u>	Identification of <i>DKCI</i> gene mutations in Japanese patients with X-linked dyskeratosis congenita.	Brit J Haematol	78	130-133	2005
Chen L., <u>Morio T.</u> , Minegishi Y., Nakada S., Nagasawa M., Komatsu K., Chessa L., Villa A., Lecis D., Delia D., and Mizutani S.	Ataxia-telangiectasia-mutated dependent phosphorylation of Artemis in response to DNA damage.	Cancer Sci	96	134-141	2005
Matsuyoshi H., Hirata S., Yoshitake Y., Motomura Y., Fukuma D., Kurisaki A., Nakatsura T., Nishimura Y., and <u>Senju S.</u>	Therapeutic effect of $\alpha$ -galactosylceramide-loaded dendritic cells genetically engineered to express SLC/CCL21 along with tumor antigen against peritoneally disseminated tumor cells.	Cancer Sci	96	889-896	2005
Mizuno K., Toma T., Tsukiji H., Okamoto H., Yamazaki H., Ohta K., Ohta K., Kasahara Y., Koizumi S., and <u>Yachie A.</u>	Selective expansion of CD16 <sup>high</sup> CCR2-subpopulation of circulating monocytes with preferential production of haem oxygenase(HO)-1 in response to acute inflammation.	Clin Exp Immunol	142	461-470	2005
* Kaneko H., Kawamoto N., Asano T., Mabuchi Y., Horikosi H., Teramoto T., JIN-RONG., Matsui E., Kondo M., Fukao T., Kasahara K., and <u>Kondo N.</u>	Leaky phenotype of X-linked agammaglobulinaemia in a Japanese family.	Clin Exp Immunol	140	520-523	2005
Tanaka T., Takada H., Nomura A., Ohga S., Shibata R., and <u>Hara T.</u>	Distinct gene expression patterns of peripheral blood cells in hyper-IgE syndrome.	Clin Exp Immunol	140	524-531	2005
Takeshita S., Kawamura Y., Takabayashi H., Yoshida N., and <u>Nonoyama S.</u>	Imbalance in the production between vascular endothelial growth factor and endostatin in Kawasaki disease.	Clin Exp Immunol	139	575-579	2005
Fujioka H., <u>Ariga T.</u> , Horiuchi K., Otsu M., Igawa H., Kawashima K., Sugihara T., and Sakiyama Y.	Molecular analysis of nonsyndromic preaxial polydactyly; preaxial polydactyly type-IV and preaxial polydactyly type-I.	Clin Genet	67	429-433	2005

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
*	Imai K., Zhu Y., Revy P., <u>Morio T.</u> , Mizutani S., Fischer A., <u>Nonoyama S.</u> , and Durandy A.	Analysis of class switch recombination and somatic hypermutation in patients affected with autosomal dominant hyper-IgM syndrome type 2.	Clin Immunol	115	277-285	2005
	Sekiguchi Y., Yasui K., Yamazaki T., <u>Agematsu K.</u> , Kobayashi N., and Koike K.	Effective combination therapy using interferon-gamma and interleukin-2 for disseminated mycobacterium avium complex infection in a pediatric patient with AIDS.	Clin Infect	41	104-106	2005
	Yasui K., Kobayashi N., Yamazaki T., and <u>Agematsu K.</u>	Thalidomide as an immunotherapeutic agent: the effects on neutrophil-mediated inflammation. (Review)	Curr Pharm Design	1	395-401	2005
	Takahashi Y., Mori H., Mishina M., Watanabe M., <u>Kondo N.</u> , Shimomura J., Kubota Y., Matsuda K., Fukushima K., Shiroma N., Akasaka N., Nishida H., Imamura A., Watanabe H., Sugiyama N., Ikezawa M., and Fujiwara T.	Autoantibodies and cell-mediated autoimmunity to NMDA-type GluRepsilon2 in patients with Rasmussen's encephalitis and chronic progressive epilepsy partialis continua.	Epilepsia	46	152-158	2005
	Tomizawa D., Aoki Y., Nagasawa M., <u>Morio T.</u> , Kajiwara M., Sekine T., Shimizu N., Kato M., <u>Yachie A.</u> , and Mizutani S.	Novel adopted immunotherapy for mixed chimerism after unrelated cord blood transplantation in Omenn syndrome.	Eur J Haematol	75	441-444	2005
	Nagasawa M., Zhu Y., Isoda T., Tomizawa D., Itoh S., Kajiwara M., <u>Morio T.</u> , <u>Nonoyama S.</u> , Shimizu N., and Mizutani S.	Analysis of serum soluble CD40 ligand (sCD40L) in the patients undergoing allogeneic stem cell transplantation: platelet is a major source of serum sCD40L.	Eur J Haematol	74	54-60	2005
*	Yamazaki T., Nagumo H., Hayashi T., Sugane K., and <u>Agematsu K.</u>	CD72-mediated suppression of human naive B cell differentiation by down-regulating X-box binding protein 1.	Eur J Immunol	35	2325-2334	2005
	Sato K., Kinoshita M., Motegi A., Habu Y., Takayama E., <u>Nonoyama S.</u> , Hiraide H., and Seki S.	Critical role of the liver CD8(+) CD122(+) T cells in the generalized Shwartzman reaction of mice.	Eur J Immunol	35	602-607	2005
	Takada H., Nomura A., Roifman CM., and <u>Hara T.</u>	Severe combined immunodeficiency caused by a splicing abnormality of the CD3delta gene.	Eur J Pediatr	164	311-314	2005
	Kato Z., Tsubouchi K., and <u>Kondo N.</u>	Molluscum contagiosum prevents progression of staphylococcal scalded skin syndrome.	Eur J Pediatr	164	768-769	2005
	Takada H., Kusuhara K., Nomura A., Ohga S., Hayashi M., Furue M., and <u>Hara T.</u>	A novel <i>CIAS1</i> mutation in a Japanese patient with chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome.	Eur J Pediatr	164	785-786	2005
	Yu JH., Lim JW., Kim KH., <u>Morio T.</u> , and Kim H.,	NADPH oxidase and apoptosis in cerulein-stimulated pancreatic acinar AR42J cells.	Free Radic Biol Med.	39	590-602	2005
	Yasui K., Kobayashi N., Yamazaki T., <u>Agematsu K.</u> , Matsuzaki S., Ito S., Nakata S., Baba A., and Koike K.	Superoxide dismutase (SOD) as a potential inhibitory mediator of inflammation via neutrophil apoptosis.	Free Radic Res	39	755-762	2005