

200936011A (1/2)

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21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 原 寿郎

平成22年3月

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21年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 原 寿郎

平成22年3月

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

目 次

I. 班員・研究協力者名簿	1
II. 統括研究報告	3
原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野教授)	
○参考資料	13
III. 分担研究報告	
1. 2008年原発性免疫不全症候群全国疫学調査結果報告	45
石村 匡崇・土居 岳彦・高田 英俊・原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野)	
2. 原発性免疫不全症登録事業の旧資料のPDF化について	50
岩田 力 (東京家政大学家政学部児童学科)	
3. Primary Immunodeficiency Database in Japan (PIDJ) プロジェクト開始以来 2年間に当科へ紹介された原発性免疫不全症 (PID)152例に関する検討	52
中川 紀子、本間 健一、釜江智佳子、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)	
大嶋 宏一 (京都大学物質・細胞統合システム拠点iPS細胞センター)	
小原 收 (理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター免疫ゲノミクス研究グループ)	
4. 血小板を用いた家族性血球貪食症候群3型の新たな迅速診断法	58
八角 高裕、村田 祐樹、井澤 和司、西小森隆太、平家 俊男 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)	
中畑 龍俊 (京都大学物質・細胞統合システム拠点iPS細胞センター)	
5. 高IgE症候群における骨と歯牙の異常の発症機構の検討	63
峯岸 克行 (東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学)	
6. わが国のIPEX症候群の臨床的・免疫学的検討	66
金兼 弘和、宮脇 利男 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)	
蒲池 吉朗 (名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学)	

7. 我が国における MSMD の臨床像, 遺伝学的背景の特徴	71
高田 英俊、保科 隆之、石村 匡崇、土居 岳彦、原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)	
大嶋 宏一 (理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫ゲノミクス研究グループ)	
小原 收 (かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部)	
金澤 崇、荒川 浩一 (群馬大学大学院医学系研究科小児科学)	
西小森隆太、河合 朋樹 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)	
中畑 龍俊 (京都大学物質 - 細胞統合システム拠点 iPS 細胞センター)	
岡田 賢、小林 正夫 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)	
8. 本邦における家族性地中海熱の特徴と今後の課題	76
上松 一永、山崎 和子 (信州大学医学研究科感染防御学)	
土屋 彩子、矢崎 正英 (信州大学医学部第三内科)	
小原 取 (かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部)	
9. 当科で経験した CIAS1 遺伝子異常症 5 例の分子生物学的解析 (特に IL-18 の関与について)	81
大西 秀典、寺本 貴英、加藤善一郎、木村 豪、金子 英雄、近藤 直実 (岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学)	
10. 特異な変異を同定した ADA 欠損症の 1 例	85
大倉 有加、竹崎俊一郎、山田 雅文、川村 信明 (北海道大学大学院医学研究科小児科)	
吉田 真 (旭川医科大学大学院医学系研究科小児科)	
今井 耕輔、中川 紀子 (防衛医科大学校小児科)	
小原 收 (理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター免疫ゲノミクス研究グループ)	
加藤善一郎 (岐阜大学大学院医学研究科小児科)	
Michael S. Hershfield (Duke University Medical Center)	
有賀 正 (北海道大学大学院医学研究科小児科)	
11. X 連鎖無ガンマグロブリン血症にみられた高エンドトキシン血症を伴った慢性胸膜炎の病態解析	90
金子 英雄、船戸 道徳、久保田一生、大西 秀典、寺本 貴英、加藤善一郎、深尾 敏幸、近藤 直実 (岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学)	
大楠 清文 (岐阜大学大学院医学系研究科病原体制御学)	
12. 外胚葉形成不全免疫不全症候群 (XL-EDA-ID) の解析	93
唐川 修平、岡田 賢、小林 正夫 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)	
13. Shwachman-Diamond Syndrome 症例の走化能解析	98
布井 博幸、唐澤 直希、水上 智之、松山美静代、小原めぐみ、澤田 浩武 (宮崎大学生殖発達医学講座小児科学分野)	
山内 明 (株式会社 ECI 研究 1 部)	
14. 特異な変異 c.910G > A を認める家族性地中海熱 2 例での MEFV 遺伝子発現と発症病態の解析	104
和田 泰三、刀祢 裕美、東馬 智子、笠原 善仁、谷内江昭宏 (金沢大学医薬保健研究域医学系小児科)	

15. 原発性免疫不全症の病態解析 .....	108
森尾 友宏、高木 正稔、水谷 修紀 (東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野)	
16. 骨髄非破壊的前処置にて造血幹細胞移植を施行した原発性免疫不全症 6 症例の検討 .....	113
笹原 洋二、久間木 悟、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)	
17. 造血幹細胞から免疫細胞への分化培養系確立に関する研究 .....	117
千葉 滋 (筑波大学大学院人間総合科学研究科)	
18. ヘルパー依存型アデノ・アデノ随伴ウイルス (HD-Ad.AAV) ハイブリッドベクターを用いた 相同組換えによる BTK 遺伝子修復研究 .....	120
石村 匡崇、落合 正行、山元 裕之、古和 温子、土居 岳彦、高田 英俊、原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)	
楠原 浩一 (産業医科大学小児科)	
中津 可道、續 輝久 (九州大学大学院基礎放射線医学 (分子遺伝学))	
相澤 絵美、三谷幸之介 (埼玉医科大学ゲノム医学研究センター)	
19. 成人 X 連鎖無ガンマグロブリン血症患者の生活の質 (QOL) についての検討 .....	124
蒲池 吉朗 (名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学)	
金兼 弘和、宮脇 利男 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)	
高田 英俊、原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧 .....	133

# I 班員・研究協力者名簿

原発性免疫不全症候群調査研究班

班 員 名 簿

	氏 名	施 設	職 名
主任研究者	原 寿 郎	九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野	教 授
分担研究者	宮 脇 利 男	富山大学大学院医学薬学研究部小児科学	教 授
	有 賀 正	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野	教 授
	土 屋 滋	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野	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
	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	准 教 授
	上 松 一 永	信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症学	准 教 授
	近 藤 直 実	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学分野	教 授
	蒲 池 吉 朗	名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学	講 師
	谷内江 昭 宏	金沢大学医薬保健研究域小児科講座	教 授
	中 畑 龍 俊	京都大学大学院医学研究科発達病態小児科学	教 授
	小 林 正 夫	広島大学大学院病態情報医科学講座小児科学	教 授
	布 井 博 幸	宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野	教 授
	岩 田 力	東京家政大学家政学部児童学科	教 授
峯 岸 克 行	東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学	准 教 授	
千 葉 滋	筑波大学医学部血液内科	教 授	
事 務 局	高 田 英 俊	九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 〒 812-8582 福岡県福岡市馬出 3-1-1 TEL 092-642-5421 FAX 092-642-5435	准 教 授
経理事務担当者	藤 川 真 一	九州大学医系学部等経理第一係 TEL 092-642-6006 FAX 092-642-6022 e-mail ijzkeiri@jimu.kyushu-u.ac.jp	係 長

## 研究協力者名簿

	氏 名	施 設	職 名
研究協力者	竹 森 利 忠	理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター 免疫記憶研究グループ	グループディレクター
	石 川 文 彦	理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター ヒト疾患モデル研究ユニット	ユニットリーダー
	小 原 収	かずさ DNA 研究所ヒトゲノム応用研究部	部長
	赤 城 邦 彦	神奈川県立こども医療センター	母子保健室長
	大 石 勉	埼玉県立小児医療センター	保健発達部長
	小 林 信 一	国立成育医療センター膠原病・感染症科	医員



## II 年次総括報告

## 統括研究報告

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

主任研究者 原 寿郎

(九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野教授)

### 研究要旨

本調査研究班は、原発性免疫不全症の患者 QOL と医療水準の向上に貢献するため以下の研究を重点的に行った。

#### (1) 全国疫学調査の実施

2008 年度国内 2,894 病院に対して原発性免疫不全症候群の全国疫学調査を行った。小児科 544 病院、内科 270 病院よりそれぞれ 1,211 例、94 例報告された。推計されるわが国における PID 患者数は 3,500 人、推計有病率は 2.7 人 / 人口 10 万人対であった。疾患分類では、抗体産生不全症が 37.6% と最も高頻度で、特に内科からの報告は多くが抗体産生不全症であった。二次調査では合併症を中心に調査を行い、一部の疾患に関して我が国における頻度、臨床像の特徴、予後などを明らかにした。PIDJ ホームページによる患者データベース構築も進めている。

#### (2) 迅速診断法の開発

平成 21 年度は、血小板を用いたフローサイトメーター法による家族性血球貪食症候群 3 型の新たな迅速診断法を確立した。

#### (3) 責任遺伝子の同定や病態の解明

本邦における IPEX, MSMD, 家族性地中海熱の臨床的特徴を明らかにした。高 IgE 症候群の骨と歯牙の異常の発症機構、その他多くの免疫不全症の病態解析を行った。XLA, IPEX に関してはヒト化マウス疾患モデルを作成した。

#### (4) 治療ガイドラインの作成と新規治療法の開発

CGD, Wiskott-Aldrich 症候群の造血幹細胞移植ガイドラインの概要を作成し、ホームページに公開した。SCID の造血幹細胞移植ガイドラインの概要を作成したので、今後細部を検討しホームページに公開する。遺伝子治療研究では、より安全性の高いベクターを検討中で、今後ヒト化マウス疾患モデルを用いて、その有効性や安全性を確認する。

#### (5) 患者家族や医療者への継続的情報提供

免疫不全症に関する最新の情報を研究会、ホームページなどで医師、患者家族に提供を行っている。わが国の成人 XLA 患者の生活の質 (QOL) 調査結果の解析では 20 ~ 29 歳の日本人健康成人男性と比較して身体的、精神的健康度ともに低下していた。今回の検討から、XLA は成人患者の身体的、精神的両面に影響を及ぼしており、身体的な治療のみならず、精神的ケア、疾患に対する患者理解度の向上、家族も含めた生活指導など総合的な治療アプローチが今後必要と考えられた。また患者家族会との連携を深め、講演会・相談会を実施した。

#### 分担研究者

宮脇 利男・富山大学大学院医学薬学研究部小児科学教授  
有賀 正・北海道大学大学院医学系研究科小児科学分野教授  
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  
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准教授  
上松 一永・信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症学准教授  
近藤 直実・岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学分野教授  
蒲池 吉朗・名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学講師  
谷内江昭宏・金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻病態検査学教授  
中畑 龍俊・京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター教授  
小林 正夫・広島大学大学院病態情報医科学講座小児科学教授  
布井 博幸・宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野教授  
岩田 力・東京家政大学家政学部児童学科教授  
峯岸 克行・東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学准教授  
千葉 滋・筑波大学医学部血液内科教授

#### 研究協力者

竹森 利忠・理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター  
免疫記憶研究グループグループディレクター  
石川 文彦・理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター  
ヒト疾患モデル研究ユニットユニットリーダー  
小原 収・かずさ DNA 研究所ヒトゲノム応用研究部部長  
赤城 邦彦・神奈川県立こども医療センター母子保健室長  
大石 勉・埼玉県立小児医療センター保健発達部長  
小林 信一・国立成育医療センター膠原病・感染症科医員

## I. 研究の目的

本調査研究班は、原発性免疫不全症の患者 QOL と医療水準の向上に貢献するため努力している。原発性免疫不全症は 150 疾患以上となり、またキャリアオーバーによる成人例、成人での新たな発症例は十分把握されていない。本研究班の基礎となる各疾患の我が国における頻度、臨床像の特徴、予後、QOLなどをこの3年で明らかにするため、全国調査を行い小児のみならず成人の原発性免疫不全症の全患者を把握した。その際患者のみならず、主治医も登録し医療者への継続的情報提供、意見交換の体制を作った。

早期に診断し小児期の重症感染を減少させることで患者 QOL を向上させるため、迅速診断法を開発し医療に応用する。また正確な診断や適切な治療の開発を行うため、引き続き責任遺伝子の同定や病態の解明を行う。

我が国の背景・特色をふまえたそれぞれの疾患に適合した治療ガイドラインを作成し治療法を改良していくために、造血幹細胞移植では、既に作成したプロトコルの成績を把握した上で移植法の改良や適応拡大、より安全性が高く成績のよい方法を具体化し公開する。またヒト化マウス疾患モデルを用いて、疾患モデルマウスを作成しより安全なベクターを用いた遺伝子治療法や再生治療法を開発していく。

## II. 研究方法

本調査研究では、以下の重点目標を掲げ、国際的動向や国内でのこれまでの調査結果に基づいて、我が国の背景をふまえた研究を行い、患者・家族へ最善の治療の提供、及び QOL の向上に寄与したい。

(1). 疫学調査研究：原発性免疫不全症候群の 2007 年の新分類に従い全疾患の全国一次調査を行った。【対象施設】小児科：日本全国の日本小児科学会員が 1 名以上在籍する

病院 (2291 施設) (特別階層：小児科臨床研修指定施設) 内科：日本全国の内科を標榜する病院 (8026 施設) 【統計解析】難病の患者数と臨床疫学像把握のための全国疫学調査マニュアル (第 2 版) (厚生労働省難治性疾患克服研究事業 特定疾患の疫学に関する研究班 (2006)) に準拠。上記対象施設から階層別に抽出率を設定し、無作為抽出を行い質問紙法により一次調査を行った。一次調査で患者ありとの回答施設に対し、二次調査を行った。二次調査では特に合併症の有無に重点を置いて調査を行った。また、SCID・複合免疫不全症・Btk 欠損症を含む B 細胞欠損症・分類不能型免疫不全症 (CVID)・高 IgM 症候群・Wiskott-Aldrich 症候群・高 IgE 症候群・好中球減少症・MSMD・自己炎症性症候群 (TRAPS・HIDS・CAPS・EOS・FMF) に対しては調査特異項目を設定し二次調査を行った (参考資料 1)。理化学研究所と共同で PIDJ ホームページによる患者二次登録も推進し、IT を活用したデータベースを構築する。それにより各疾患の我が国における頻度、臨床像の特徴、予後などを明らかにする。

(2). 迅速診断法の開発と遺伝子解析：各研究者が原発性免疫不全症の診断において、遺伝子診断以外の簡易診断法や、遺伝子解析以前の簡易スクリーニング検査法などの迅速診断法開発を行う。遺伝子解析は各専門施設と理研・かずさ DNA 研究所・JMF センターが行う。

(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の開発につながるため、全分担研究者が症例の蓄積に努め責任遺伝子の同定を行う。今回はさらにヒト化マウス疾患モデルを用いて原発性免疫不全症の原因解明、病態解析を行う。

(4). 治療ガイドラインの作成と新規治療法の改良・開発：現在の治療法の中で、患者の生活スタイルに最も適合し負担の少ない治療法を提言し、主要免疫不全症について治療ガイドラインを作成する。造血幹細胞移植では、既に作成したプロトコールの成績調査、今後プロトコールが作成されるべき疾患で検討し、安全性の高い方法を具体化し公開する。遺伝子治療研究では、安全性の高いベクターの検討を行い、ヒト化マウス疾患モデルを用いて、その有効性や安全性を確認する。

(5). 患者 QOL 調査と患者家族や医療者への継続的情報提供、意見交換の体制を作る：診断基準や確定診断に必要な検査項目、専門病院、遺伝子検査を行う施設名や連絡先、治療指針、造血幹細胞移植のガイドラインなど新しい情報をホームページに掲載する。担当医師への継続的情報提供、意見交換の体制を作る。患者家族会との連携を深め、講演会や相談会を実施する。また、患者の QOL 調査（1部は自己筆記式質問票で、就職・就学、家族・結婚、遺伝、治療状況、自覚症状・合併症、嗜好・趣味などの情報、もう1部は 36-item short form health survey, version2 (SF-36v2) で HR-QOL 評価）を行い、主治医調査票からの患者情報と合体させ問題点を抽出し改善方法を検討する。

### Ⅲ. 研究結果と考察

#### (1). 全国疫学調査の実施

2008 年度国内の原発性免疫不全症候群患者の頻度、臨床経過などを最新の国際的分類法にのっとして解析するために、国内の 2,894 施設（小児科 1,224 施設、内科 1,670 施設）に対して原発性免疫不全症候群の全国疫学調査を行った。全国の小児科、内科を対象とし規模別に層化無作為抽出し（抽出率：小児科 53.4% 内科 20.8%）、患者数把握を目的とした第一次調査表を送付し

回収した。小児科 544 施設（45.0%）、内科 270 施設（16.3%）よりそれぞれ 1,211 例、94 例報告された。推計されるわが国における PID 患者数は 3,500 人（95%信頼区間：2,800 人～4,200 人）、推計有病率は 2.7 人/人口 10 万人対であり、これまで報告された人数より多く存在すると推計された。疾患分類では、抗体産生不全症が 37.6%と最も高頻度で、特に内科からの報告は多くが抗体産生不全症であった。二次調査では合併症を中心に調査を行い、悪性疾患は 25 例、自己免疫関連疾患が 93 例報告された。アンケート調査で明らかになった患者数に関しては、今後 PIDJ への登録を働きかける。

#### Primary Immunodeficiency Database in Japan (PIDJ) プロジェクト

国内の原発性免疫不全症患者の現状把握、病態の解析、診断治療方法の確立等の必要性から、厚生省研究会議、理化学研究所、かずさ DNA 研究所の共同研究として、2008 年 1 月に PIDJ プロジェクトが開始された（参考資料 2）。

開始後 2 年間に PIDJ を介して防衛医科大学に紹介を受けた 152 症例（国内 75 例、51 施設、国外 77 例、9 カ国、9 施設）の概要を紹介する。

年齢は、平均 10.7 歳で、19 歳以上の症例は 24 例（16%）、1 歳未満の症例は 27 例（17%）だった。国内症例の方が乳幼児の比率が高く、国外より早期に相談されていると考えられた。紹介時の診断名は、抗体不全症が 85 例（54%）と最多で、複合免疫不全症 19 例（12%）、WAS 6 例、高 IgE 5 例、食細胞異常症 9 例で、臨床診断未確定が 12 例（8%）だった。FACS 解析を 112 例で施行し、90 例で異常を認めた。CD40L 発現を 11 例で解析し、5 例で発現低下を認めた。in vitro class switch を 17 例で検討し、6 例で異常を認めた。

RCAI、かずさ DNA 研究所に 88 例の原因

遺伝子検索を依頼し、34例(39%)で遺伝子変異(13遺伝子)が同定された。

T細胞・B細胞新生能(TREC・KREC)の解析を145例で行い、TREC低下を42例、KREC低下を36例で認めた。抗体系の異常として相談された24例のうち14例(16%)でTREC低下を認め、T細胞新生異常が合併していることが示唆された。また、FACS解析で正常であった22例の中で、2例がTREC、KRECともに低下していた。

臨床データ等とあわせ、134例中34例が確定診断できた。また、感染症対策、移植適応を含め、治療法について随時アドバイスをを行った。

以上の結果から、原発性免疫不全症の診断と治療について需要が大きいことが判明し、PIDJプロジェクトの枠組みが有効に活用されていることが示された。

## (2). 迅速診断法の開発

平成21年度は、血小板を用いたフローサイトメーター法による迅速診断法を確立した。

### 1. 血小板を用いた家族性血球貪食症候群3型の新たな迅速診断法の開発

家族性血球貪食症候群(FHL)は、造血幹細胞移植を必要とする予後不良の疾患であり、早期診断による迅速な治療方針の決定が必要である。この中でFHL3の原因分子としてMunc13-4が同定されており、これまで血小板蛋白を用いたウェスタンブロット法によるFHL3のスクリーニングが行われてきた。しかし、FHLの急性期は血小板輸血依存状態である事が多く、状態が安定するまで検査が行えない欠点があった。今回、フローサイトメトリーを用いて血小板中のMunc13-4蛋白発現を評価する事に成功した。この方法は、血小板輸血依存状態でもMunc13-4蛋白を欠損した異常血小板の検出が可能であり、FHL3の迅速スクリーニング法として非常に有用である。

## (3). 責任遺伝子の同定や病態の解明

### 1. 本邦における原発性免疫不全症の遺伝子解析

かずさDNA研究所では、プロジェクトの一員として、毎月20-30検体、100種類を超える免疫不全症関連遺伝子の解析を行っている。2009年1~12月までに、300サンプル近くのPID関連遺伝子解析をDNAシーケンシングで行った結果、多くの変異を明らかにすることができた(参考資料3)。こうした経験を基にして、蓄積された症例情報の活用、より包括的な遺伝子診断法の確立、より効率的かつ正確な遺伝子診断のためのシステム作りを行う。

### 2. 高IgE症候群の病態解析：骨と歯牙の異常の発症機構の検討

高IgE症候群は、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎にアトピー性皮膚炎・血清IgE高値を合併する原発性免疫不全症である。最近峯岸らは、骨・歯牙の異常を合併する1型の高IgE症候群の主要な原因がSTAT3のドミナントネガティブ(DN)変異であることを報告した。今回、STAT3の分子異常がどのようなメカニズムで骨と歯牙の異常を引き起こすかを高IgE症候群のモデルマウスを作製して検討した。その結果、全身にSTAT3-DNを発現すると①骨芽細胞の機能が低下し骨の機械的強度が低下すること、②骨芽細胞上のRANKL(Receptor activator of NF- $\kappa$ B Ligand)の発現が低下しこのため破骨細胞の分化が障害されていることを明らかにした。これらが高IgE症候群に特徴的な骨と歯牙の異常の発症に関与している可能性が示唆された。

### 3. 我が国のIPEX症候群の臨床的・免疫学的検討

IPEX症候群は、多発性内分泌異常、難治性下痢などの症状を呈し、乳幼児期に致死的となるきわめてまれな疾患である。今回わが国のIPEX症候群患者6家系7名の臨床的、

免疫学特徴を明らかにした。*FOXP3* 遺伝子変異は L76fsx53, A383T, F373V, K250-1, IVS1+2T>G であり、1 例では変異は同定されなかった。健常人では末梢血において *FOXP3*<sup>+</sup>*CD4*<sup>+</sup>*CD25*<sup>+</sup>T 細胞を約 5% 認めるが、IPEX 患者では全例とも 1% 以下に低下していた。また正常人では制御性 T 細胞 (Treg) は *CD127*<sup>dim</sup>*CD4*<sup>+</sup>*CD25*<sup>+</sup>T 細胞と考えられているが IPEX 症候群患者における *CD127*<sup>dim</sup>*CD4*<sup>+</sup>*CD25*<sup>+</sup>T 細胞は健常人由来の細胞と異なり、T 細胞の増殖抑制効果が弱く認められた。*CD127*<sup>dim</sup>*CD4*<sup>+</sup>*CD25*<sup>+</sup>T 細胞の機能には *FOXP3* の発現が必須と考えられ、これらの細胞は Treg の前駆細胞である可能性が考えられる。

#### 4. 我が国における MSMD の臨床像、遺伝学的背景の特徴

*IFNGR1*, *IFNGR2*, *IL12B*, *IL12RB1*, *STAT1* 及び *NEMO* 遺伝子異常などによって細胞内寄生菌に対する易感染性が起こり Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases (MSMD) と呼ばれている。我が国における MSMD の臨床像や患者の遺伝的背景を解明するため、今回、平成 11 年から平成 21 年の十年間に重症の細胞内寄生菌感染症をおこした 49 名の患者を対象として、その臨床像を解析した。その結果、起炎菌は BCG 感染症が最も多く、BCG 骨髄炎が最も多かった。サルモネラやリステリア感染症は見られなかった。BCG 接種から発症までの期間 (中央値) は 11 か月 (5 ~ 46 か月) であった。5 家系 6 名の患者は優性遺伝型部分 *IFN-γR1* 欠損症であった。1 例 (男性) に *NEMO* 遺伝子変異を認め、この患者は外胚葉形成不全症の症状は明確ではなかった。すべての優性遺伝型部分 *IFN-γR1* 欠損症で、単球での *IFN-γR1* の過剰発現がみられ、*NEMO* 遺伝子変異を認めた患者では、LPS 刺激による単球内 TNF- $\alpha$  産生能が低下していた。我が国においては優性遺伝型部分

*IFN-γR1* 欠損症が MSMD のなかで最も多いと考えられ、その臨床像や遺伝的背景は欧米と異なる事が明らかになった。

#### 5. 本邦における家族性地中海熱の特徴と今後の課題

本邦における 105 例の家族性地中海熱患者の臨床的検討では、地中海地方に比し、腹痛、関節痛、皮疹の合併が少なく、胸背部痛が多い傾向がみられた。また、確定診断に 10 年以上を有し、患者 QOL が著しく損なわれている例が多くみられた。治療薬コルヒチンがほぼ全例で著効しており、諸外国の使用量の半量で有効であった。家族性地中海熱責任遺伝子 *MEFV* の本邦初の M680I 変異家系を今年度みいだした。また、心筋炎を反復し手術を繰り返している患児を本症と診断し、コルヒチン治療を行うことができた。遺伝子解析では、E148Q/M694I 変異が多いことが判明したが、ヘテロ接合の M694I 変異のみおよび E148Q のみを有する症例の検討が必要と考えられた。今回検討した典型的な家族性地中海熱患者以外に、作成した診断基準の必須項目を満たさない発熱期間が長く、特異的な *MEFV* 遺伝子変異 (P369S, R408G variants) を有する症例を多数に認めた。本患者の治療は今後重要な課題と考えられ、パイリン関連周期熱症候群として臨床検査所見をまとめる必要がある。

#### 6. *CIAS1* 遺伝子異常症の分子生物学的解析

Cryopyrin 関連周期性症候群 (CAPS) は、*CIAS1* 遺伝子の機能獲得型変異を原因とする自己炎症性症候群の 1 疾患である。本年度に岐阜地区で *CIAS1* 遺伝子変異を有する 5 症例を経験した。5 症例のうち 4 症例は変異 Cryopyrin 発現実験にて NF- $\kappa$ B の上昇が確認され CAPS と確定診断された。このうち 2 症例は軽症型の家族性寒冷自己炎症性症候群 (FCAS) の表現型を示し、サイトカインプロファイルの解析から CINCA 症候

群、Muckle-Wells 症候群 (MWS) 症例と異なり血清 IL-18 は上昇しないが、患者末梢血単核球分画 (PBMCs) からの LPS 刺激後の IL-18 産生が上昇することが示された。CAPS の診断には遺伝子診断のみならず、変異タンパクの活性実験、サイトカインプロファイルの検討が重要であることが示唆された。

#### 7. 同一アレル上の 2 つの変異の相乗作用により発症した ADA 欠損症

ADA 欠損症は常染色体劣性遺伝疾患で重症複合免疫不全症 (SCID) の約 15% を占める。ADA 欠損症の多くは SCID を呈するが、臨床的重症度は ADA 遺伝子変異の種類に基づく ADA 残存活性から SCID, delayed onset, late onset, partial deficiency の 4 群に分けられる。Partial deficiency の変異の研究から ADA 活性は正常の 1% あれば正常免疫能を維持できるとされている。

今回、重症の ADA 欠損症の 1 ヶ月男児において父親由来の 2 つのミスセンス変異 (G239S, R34S) と母親由来のナンセンス変異 (Q119X) の計 3 つの変異を同定した。G239S は過去に経験した “partial deficiency” の変異である。一方、R34S は新規変異であった。ADA 遺伝子を欠失させた大腸菌 S03834 株を用いて、G239S、R34S の変異を有するヒト ADA 遺伝子 cDNA を組み込んだクローンを作成し ADA 残存活性を測定した。それぞれ 2.2%、56.4% であり R34S も “partial deficiency” の変異であることが推測された。更に G239S、R34S の 2 つの変異を有するクローンでは ADA 残存活性が 0.008% と著明に低下することが示された。蛋白の立体構造解析によって、G239S は疎水性コア形成に関係する部位の変異であり、R34S はヘリックス間の水素結合に関係していると予測された。これら二つの “partial deficiency” 変異が ADA 遺伝子の同一アリ

ル上に存在して相乗的に作用することによって、ADA 活性部位の重大な構造的変化を生じて劇的な活性低下をもたらした可能性が示唆された。

#### 8. X 連鎖無ガンマグロブリン血症にみられた高エンドトキシン血症を伴った慢性胸膜炎の病態解析

X 連鎖無ガンマグロブリン血症 (XLA) は B 細胞の初期分化が障害されることにより、末梢の B 細胞数の著しい低下とすべてのクラスの免疫グロブリンの減少を示す遺伝性の免疫不全症である。今回、XLA の患者において、病理学的に器質化肺炎を呈する難治性の胸膜炎を経験した。病変部の組織の遺伝子解析により *Helicobacter equorum* を世界で初めてヒトから検出した。さらに、in situ hybridization でも *Helicobacter equorum* の発現を確認した。この持続感染に伴う高エンドトキシン血症にもかかわらず、エンドトキシンショックは誘導されなかった。BTK タンパクの異常により TLRs のシグナル伝達系が障害されているため、患者はエンドトキシンに低感受性である可能性が考えられた。

#### 9. 外胚葉形成不全免疫不全症候群 (XL-EDA-ID) の解析

X 連鎖性外胚葉形成不全免疫不全症候群 (XL-EDA-ID) は皮膚、汗腺、歯牙などの外胚葉の異常に免疫不全を合併するまれな疾患であり、NF- $\kappa$ B の活性に重要な役割を担う NEMO に異常が認められる。XL-EDA-ID の患者において *IKBKG* のイントロン 6 の領域にヘミ接合性新規遺伝子変異 769-1G>C を同定した。本変異は、splice-acceptor site に存在し、患者ではスプライス異常があることが予想された。mRNA の検討では、異常なスプライシングを受けた NEMO mRNA と、正常な NEMO mRNA の両方が検出された。この WT と mutant の比率は採血する日によって変動がみられた。患者白血球では炎症性サイトカイン産生の低下、メモ



リー B 細胞の低下、麻疹ウイルスに対する反応性の低下と抗体産生不全が認められた。これらの検査結果から、本症例は NEMO の量的異常により XL-EDA-ID を発症したことが推測された。

#### 10. Shwachman-Diamond Syndrome 症例の走化能解析

低身長精査の目的で来院された 8 歳女児が、腹部エコー検査で膵臓の著明な脂肪浸潤と膵実質萎縮所見を契機に、膵外分泌不全、膝関節骨端軟骨の石灰化、好中球減少症などを呈している事がわかり、SBDS 遺伝子検査から Shwachman-Diamond Syndrome (SDS) と診断された。同症例で fMLP に対する Taxiscan による走化能解析を行い、velocity も directionality も低下していたこと、および、fMLP 低濃度 ( $10^{-10}$ - $10^{-9}$ M) での directionality の異常がコントロールに対して顕著であり、SBDS 蛋白が velocity も directionality にも関わる PI3 Kinase や SHIP1 などのシグナル伝達機構に関与し、走化能異常をきたしているのではないかと考察した。

#### 11. 特異な変異 c.910G > A を認める家族性地中海熱の MEFV 遺伝子発現と発症病態の解析

家族性地中海熱症例で特異な変異 c.910G > A をホモ接合体性に認める 2 症例について、MEFV 遺伝子発現ならびに蛋白発現の特徴を検討した。本変異は exon 2 の最終塩基の変異で、主として exon 2 が skipping するスプライス異常が生じることが mRNA ならびに蛋白レベルで確認された。さらに、exon 2 を欠損した MEFV 遺伝子を導入した細胞では、pyrin 蛋白の発現低下や分布異常が起こる可能性が示唆された。これらの結果より、すでに報告されている、ミスセンス変異以外にも pyrin 蛋白発現量の低下や異常蛋白発現による炎症制御異常が惹起されることが明らかにされた。

#### 12. ICOS 欠損症の病態解析

ICOS 欠損症姉弟例において T 細胞サブセット解析を行ったところ、 $CD4^+CD45RO^+$  細胞の著減、特に  $CCR7^-CD62L^-$  群の effector memory 群の著減が明らかになった。また記憶 T 細胞の減少は CD4 細胞に留まらず、 $CD8^+$ T 細胞においても同様の現象が観察された。さらに末梢血  $CD4^+$ T 細胞を精製し、CD3/CD28 刺激を行ったところ、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-10、IL-17 の産生が不良であることが明らかになった。PMA/Ionophore 刺激後の細胞内サイトカイン染色でも同様の結果が得られ、患者では T 細胞シグナル異常ではなく、Effector 細胞の polarization に問題があることが示唆された。また ICOS が欠損した状態では、IL-10 産生制御性 T 細胞が減少しているのみならず、CTLA-4 の誘導も不良であることが明らかになった。

#### (4). 治療ガイドラインを作成と新規治療法の開発

CGD、Wiskott-Aldrich 症候群の造血幹細胞移植ガイドラインの概要を作成し、ホームページに公開した。

##### 1. 骨髄非破壊的前処置にて造血幹細胞移植を施行した症例の検討

これまで東北大学及び関連施設にて骨髄非破壊的前処置にて同種造血幹細胞移植を施行した、SCID 以外の原発性免疫不全症 6 症例の臨床経過につき検討した。疾患の内訳は、CGD (gp91-phox) 2 例、WAS 1 例、LAD-I 型 1 例、HIGM-I 型 1 例、IPEX 症候群 1 例で、ドナー別では HLA 一致同胞ドナー 4 例と非血縁ドナー 2 例であった。前処置は Flu/CY/low-dose TBI を基本に選択した。IPEX 症候群を除く 5 例は免疫抑制剤の調整により混合キメラから最終的に完全キメラとなったが、同胞ドナー移植例で Rituximab 投与あるいは DLI+PBSC 輸注例を 1 例ずつ経験した。同胞ドナーの IPEX 症候群 1 例は混

合キメラ状態が持続しているが、臨床症状の消失と末梢血中にドナーと同等数の Foxp3 陽性細胞を確認しており、今後も注意深い経過観察を予定している。全例で前処置関連合併症は軽微で、移植後 QOL は良好に保たれている。Flu/CY/low-dose TBI は比較的安安全で有効な前処置法であったが、症例毎の混合キメラの克服と、L-PAM を含む前処置との比較検討が重要と考えられた。

## 2. 原発性免疫不全症モデルマウスの確立と応用

自然および獲得免疫能が欠失または高度に低下したマウスにヒト造血幹細胞を移入することにより、ヒトの免疫系を構築したマウスの作成が近年可能となっている。我々はこのヒト化マウスに XLA 患者骨髄由来 Linage<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> 細胞を移植し、ヒト XLA の病態を再現するモデルマウス (XLA レシピエントマウス) を確立した。XLA レシピエントマウスでは著明な B 細胞分化障害および機能障害が起きていた。我々は今後この XLA レシピエントマウスを用いて遺伝子治療の有効性・安全性などについて検討を加える予定である。宮脇らは IPEX 患者骨髄由来 Linage<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> 細胞を移植し、ヒト IPEX の病態を再現するモデルマウスを作製している。

## 3. 造血幹細胞から免疫細胞への分化培養系確立に関する研究

ヒト由来の造血幹細胞や iPS 細胞などから体外でリンパ球を誘導する技術が確立できれば、免疫不全症の病態解明や新たな原因遺伝子の同定、さらには治療法開発などへの応用が期待できる。幹細胞から T 細胞や NK 細胞を培養によって誘導することは技術的に困難であったが、Notch シグナルを付与するような培養環境を与えることにより T 細胞が誘導できることが、近年マウスの系で示された。

千葉らは、ヒト造血幹細胞から Notch の

リガンドを利用して T 細胞を誘導することを試みた。マウス造血幹細胞からの誘導は容易であったが、ヒト造血幹細胞からは、胸腺細胞の主体を占める CD4・CD8 ダブルポジティブ T 細胞より未熟な段階までしか分化を誘導することができなかった。

しかし、NK 細胞に関しては、Notch シグナルが必須であることを突き止めた他、NK 細胞誘導因子といわれる IL-15 の非存在下でも、Notch シグナル付与により細胞障害活性をもつ、機能的な NK 細胞に誘導されることを明らかにした。さらに、Delta4-Fc キメラ蛋白 (可溶性 Notch リガンドの一つ) と IL-15 を組み合わせることにより、CD56 を高発現し、かつ細胞障害活性の高い成熟 NK 細胞を効率よく産生できることを見出した。

## 4. 遺伝子治療研究

伴性劣性無ガンマグロブリン血症 (XLA) は、*BTK* 遺伝子変異により B 細胞系の分化障害を来す原発性免疫不全症である。本疾患では造血幹細胞の一部で変異遺伝子を修復し、かつそれが増殖優位性を獲得できれば抗体産生能を回復できる可能性がある。我々は *BTK* 遺伝子の exon 6 ~ 19 とその隣接遺伝子 *TIMM8A* を含む genome 領域、および EGFP・Hygromycin (Hyg) 耐性遺伝子を搭載したヘルパー依存型アデノ・アデノ随伴ウイルス (HD-Ad.AAV) ハイブリッドベクターを作製した。同ベクターをヒト男性 preB-ALL 細胞株である Nalm6 に感染させ Hyg 選択によって遺伝子導入された細胞をクローニングした。Hyg 耐性株 61 株 (0.63% の頻度) を得て、7 株 (0.073% の頻度) で相同組換えを証明した。全ての相同組換え株で BTK 蛋白発現を認めた。同ベクターをヒト臍帯血 CD34 陽性細胞に感染させ 10% 程度の一過性 GFP 陽性細胞を認めた。本ベクターにより相同組換えによる *BTK* 遺伝子の変異修復を行える可能性を示した。造血幹細

胞での更なる検討を行う予定である。今後ヒト化マウス疾患モデルを用いて、その有効性及び安全性を確認する。

#### (5). 患者 QOL 調査と患者家族や医療者への継続的情報提供

わが国の成人 XLA 患者の生活の質 (QOL) 把握のため、成人患者 25 名における社会経済的状況、社会生活に対する疾患の影響度、治療状況、健康関連 QOL (HR-QOL)、合併症、遺伝に関する知識などについて解析した。今回の対象患者においては、比較的良好な社会生活、治療コンプライアンスを保っていると思われたが、1 名が長期入院中のため無職となっていた。HR-QOL の解析では 20 ～ 29 歳の日本人健康成人男性と比較して身体的、精神的健康度ともに低下していた。慢性肺疾患などの慢性感染症の合併、疾患に対する知識や情報の不足などが認められ、QOL 低下の原因の一部となっている可能性が示唆された。今回の検討から、XLA は成人患者の身体的、精神的両面に影響を及ぼしており、身体的な治療のみならず、精神的ケア、疾患に対する患者理解度の向上、家族も含めた生活指導など総合的な治療アプローチが今後必要と考えられた。今回の調査により慢性肺疾患を有する XLA 患者では本人が喫煙していた頻度が高率であった (慢性肺疾患+ : 喫煙率 50%、慢性肺疾患- : 喫煙率 9%) ことから、早期から本人に禁煙指導する必要がある。また胃がんなど合併する例があるので、ピロリ菌保有状況を調べ除菌指導を行う予定である。

また診断基準、迅速診断を行っている施設、確定診断に必要な検査項目、専門病院、遺伝子検査を行う施設名や連絡先など新しい情報をホームページに掲載した。PIDJ ホームページでは症例の相談を受け付けており、各疾患の専門家が主治医にむけて診断や治療のアドバイスをしている。日本免疫不全研究会 (参

考資料 4 : プログラム) を班会議翌日に開催し、担当医師への情報提供、意見交換を行っている。また理化学研究所と共催で 2 月 4-5 日に 2<sup>nd</sup> Symposium for PID in Asia (参考資料 5 : プログラム) を千葉のかずさで開催し、アジアでの原発性免疫不全症候群の研究促進、情報交換に貢献した。全国疫学調査の際、主治医のメールアドレスの登録を進め、継続的に免疫不全症に関する最新の情報提供を行い、この疾患に対する医療水準を向上させている。患者家族会との連携を深め、講演会や相談会を実施した。

#### IV. 研究危険情報

特になし。

#### V. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

#### VI. 研究発表

巻末に記載のとおり。

○ 参 考 资 料