

200936168A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事

成人型分類不能型免疫不全症の実態把握、亜群特定に
基づく診断基準策定及び病態解明に関する研究
平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 森 尾 友 宏

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)

成人型分類不能型免疫不全症の実態把握、亜群特定に基づく診断基準策定及び 病態解明に関する研究

目次

I.	班員・研究協力者名簿	1
II.	総括研究報告	3
	成人型分類不能型免疫不全症の実態把握、亜群特定に基づく診断基準策定及び 病態解明に関する研究	
	森尾友宏 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野)	
III.	分担研究報告	
	森尾友宏 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野)	17
	今井耕輔 (防衛医科大学校医療情報部)	24
	金兼弘和 (富山大学附属病院・小児科)	32
	松本 功 (筑波大学人間総合科学研究科臨床免疫分野)	35
	田中敏郎 (大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫アレルギー内科学講座)	40
	嶋 良仁 (大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫アレルギー内科学講座)	
	小原 収 (かずさDNA研究所ヒト遺伝子研究部)	45
	竹森利忠 (独立行政法人理化学研究所免疫・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)	49
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表	51

I 班員・研究協力者名簿

班員・研究協力者名簿

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	森尾友宏	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 発生発達病態学分野	准教授
研究分担者	今井耕輔	防衛医科大学校医療情報部	准教授
	金兼弘和	富山大学附属病院小児科	講師
	松本功	筑波大学大学院 人間総合科学研究科臨床免疫学	准教授
	田中敏郎	大阪大学医学部呼吸器 免疫アレルギー内科	准教授
	小原収 竹森利忠	かずさDNA研究所ヒト遺伝子研究部 理化学研究所免疫 アレルギー科学総合研究センター	部長 グループディレクター
研究協力者	野々山恵章	防衛医科大学校小児科学講座	教授
	梅田直人	筑波大学大学院人間総合科学研究科 疾患制御医学 臨床免疫学分野	大学院生
	嶋良仁	大阪大学大学院医学系研究科呼吸器・免疫アレルギー内科学講座	助教
	加地友弘	独立行政法人理化学研究所免疫・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	研究員
事務局	森尾友宏 松本耕一郎	東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 発生発達病態学分野 〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45 TEL&FAX:03-5803-5245 E-Mail:tmorio.ped@tmd.ac.jp	准教授 研究班事務
経理事務担当者	池内さやか	〒113-8510 東京都文京区湯島1-5-45 東京医科歯科大学 学術国際部研究推進課 TEL:03-5803-5872/FAX:03-5803-0179 E-mail:ikeuchi.adm@cmn.tmd.ac.jp	

Ⅱ 年次総括報告書

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服事業)
研究報告書

成人型分類不能型免疫不全症の実態把握、亜群特定に基づく診断基準策定及び
病態解明に関する研究

研究代表者 森尾 友宏 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 准教授

研究要旨:

#1 分類不能型免疫不全症(CVID)の全国調査

平成21年8月に日本血液学会、日本感染症学会、日本リウマチ学会教育研修施設合計1159部局に一次アンケートを送付し、410施設より回答を得た。

合計71名の登録があり、11月に二次アンケートを送付、12月末までにほぼ全施設から回答を回収した。

原発性免疫不全症調査班の把握するCVID情報と合わせ、重複を除いた208名を対象に解析したところ、ヨーロッパ免疫不全症研究会(ESID)が提唱するCVID基準がすべて確認された患者は9名であった。診断基準中の「同種血球凝集素の欠損/ワクチンへの低反応」が確認されたものは9名で、他の遺伝子異常を除外しているものは58名に留まっていた。

#2 CVID免疫担当細胞の解析

CVIDと診断された24名の患者において、KRECs, TRECsによってB細胞、T細胞の一次免疫組織からの産生能を、21名の患者でB細胞の多次元表面抗原分析によるB細胞分化段階の詳細とT細胞の亜群解析によるその偏りを検討した。

その結果、CVIDでは記憶B細胞あるいは前形質細胞への分化異常とT細胞レパトリの偏りが認められ、疾患特有の現象であることが明らかになった。

#3 CVIDの責任遺伝子の探索

14例のCVID疑い検体に対して、BAFFR (TNFRSF13C), CD19, ICOS, SH2DIA, TACI (TNFRSF13B)の遺伝子構造解析を行った。その結果、アミノ酸変化を伴う既知の一塩基多型は検出されたものの、タンパク質機能に大きな影響を与えるような変異は見出されなかった。

#4 CVIDに合併する病態の解析

CVIDでは18%の患者で自己免疫疾患が認められた。抗核抗体高値(3例)やリウマチ因子陽性者(1例)も抽出された。2例のCVID患者では自己免疫疾患の病態につき、体系的遺伝子発現解析やT細胞亜群解析などにより検討し、エフェクター細胞と抑制性細胞の不均衡が認められた。

#5 亜群同定から新規診断基準案の策定

#1~#4により、ESID基準は除外診断で、明確な診断指針でないため、確定診断に至らない症例が多いことが明らかになった。本班では、参考項目を充実された暫定的診断基準案と亜群分類・疾患分類を作成した(別添)。

研究分担者氏名

今井耕輔:防衛医科大学校医療情報部

准教授

小原 収:かずさ DNA 研究所ヒト遺伝子研究部部長

金兼弘和:富山大学医学部小児科講師

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グループディレクター

田中敏郎:大阪大学医学部呼吸器・免疫アレルギー内科准教授

松本 功:筑波大学大学院・人間総合科学研究科・臨床免疫学准教授

A. 研究目的

CVID はヨーロッパ免疫不全症学会 (European Society of Immuno -deficiency : ESID) によれば、「2 歳以上 (多くは 10 代以降) で発症する低 g グロブリン血症で、同種血球凝集素の欠損、あるいはワクチンへの低反応を示し、既知の免疫不全症ではない疾患」と定義されている。疾患概念が不明瞭であり、50%以上が自己免疫疾患を合併すること、悪性腫瘍の発生も多いことなどの問題も内包する。多くの免疫不全症は小児科医が診療に当たっているが、CVID の大半は成人であることに加えて、40 歳代以降の発症もあり、患者の実態も明らかではない。就労年齢の重症疾患であることから、社会的な問題点も多いが、どの診療科での診療が適切か、さえ不明確な状況である。

研究代表者及び分担者は今までに UNG 欠損症 (*Nat Immunol*, 2006)、CD19 欠損症 (*Genes Immun*, 2008)、ICOS 欠損症 (*J Immunol*, 2009)などを明らかにし、B 細胞重

群遺伝子体系的解析 (*J Exp Med*, 2008)や、機能的データベース開発などにも関与している。また自己免疫疾患や腫瘍発生研究においても成果を上げている (*PNAS*, 2007, 2009)。

この研究では主に成人を対象とした分類不能型免疫不全症 (以下 CVID) の患者数・病像調査を通じて、疾患の実態把握を行い、さらに免疫学的、分子生物学的検討から、疾患概念の整理・疾患本態の解明を目指すことより、診断の確立、診療の向上を図ることを目的とする。

B. 研究方法

#1 分類不能型免疫不全症 (CVID) の全国調査 (今井、田中、松本、森尾)

年長小児及び成人を対象にして CVID の全国調査を行う。アンケート送付対象施設は全国の大学附属病院の血液内科、膠原病内科、免疫・アレルギー科、感染症科、小児科及び大規模病院の左記診療科を中心とし、およそ 1,200 部局にアンケートを送付して、患者実態を把握する。

#2 CVID 免疫担当細胞の解析 (金兼、竹森、森尾)

CVID の診断には、明確な基準作成に向けての、詳細な免疫学的解析が肝要である。そこで、現時点で CVID と診断された 50 名以上の患者から同意を取得し、以下の解析を行う。

- (A) B 細胞、T 細胞、抗原提示細胞重群の多次元表面抗原分析及び機能解析
- (B) 患者 B 細胞及び B 細胞重群の体系的発現遺伝子解析
- (C) シグナル伝達を含む免疫担当細胞の生化学的解析

(D) Kappa-deleting recombination excision circle (KREC)及びT-cell receptor excision circle (TREC)測定によるB細胞、T細胞新生能解析

#3 CVIDの責任遺伝子の探索（今井、小原）

CVIDでは現在までにBAFF-R, CD19, ICOS, TACIなどが責任遺伝子として同定され、新たな疾患として独立した。#1, #2から得られた情報を元に、BAFF, APRIL, ICOS-L, BCMAなどの候補遺伝子を体系的に解析し、明確に定義可能な疾患を明らかにする。また、かずさDNA研究所の資源を利用し、次世代シーケンサーによる体系的かつ網羅的な遺伝子解析も開始する。

#4 CVIDに合併する病態の解析（田中、松本）

CVIDの半数以上に合併する自己免疫疾患を中心に、病像について整理すると共に、患者免疫担当細胞の分子学的、細胞生物学的解析により、その発生機構の解明を試みる。

（倫理面への配慮）

本研究はヒト血清、貴重な患者検体を用いて行うものである。また遺伝子解析も含む研究であるので、倫理面には十分に配慮し、適切な説明と同意取得を元に各種研究倫理指針に準拠して研究を行った。本研究に関しては東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会及び同・遺伝子解析に関わる研究に関する倫理審査委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

#1 分類不能型免疫不全症（CVID）の全国調査

全国 1153 施設に一次アンケートを送付し、410 施設からの回答を得て、71 名の患者が登録された。さらに、二次アンケートでは 43 施設中 33 施設から回答があり、71 名中、56 名の二次情報が集積した。

表 1 CVID ESID 基準

確実例：

①低 IgG 血症（2SD 以下）及び IgM あるいは IgA が低値（2SD 以下）：いずれも年齢を考慮

②2 歳以降の発症

③同種血球凝集素反応の欠如、あるいはワクチンへの低反応

④既知免疫不全症、低 g グロブリン血症をきたす疾患ではない

疑い例：

①IgG, IgM あるいは IgA のうち最低 1 つが低値（2SD 以下）：いずれも年齢を考慮

②～④は同じ

上記 ESID 基準では

①170 名、②89 名、③9 名④16 名（56 名：Btk のみ否定を含める）で基準を満たしており、最終的に 10%以下で基準を満たしていることが明らかになった。

発症年齢では 2 歳未満のグループが 28 名であり、大半は数年以上の経過を辿っていることが判明した。

#2 CVID免疫担当細胞の解析（金兼、竹森、森尾）

54 名の患者にて B 細胞、T 細胞の亜群解析を行うと共に、41 例では B 細胞、T 細胞の新生能についても解析を加えた。

B 細胞では 4 例を除き、記憶 B 細胞、形

質芽細胞の減少が認められた。一方 T 細胞の増殖は正常であったが、さまざまな T 細胞亜群の偏りが検出され、また 54% で TCR V repertoire の偏りが認められた。

B 細胞新生能

sjKREC は、TREC が正常の 24 例では正常範囲であった。一方、TREC が感度以下であった 17 例は、sjKREC が感度以下である 6 例と、正常である 10 例に分けられた。さらに、sjKREC 低値を示した 6 例中 4 例は cjKREC も感度以下であった。2 例は、cjKREC が正常であり、B 細胞新生能の低下が疑われた。

T 細胞新生能

CVID 患者 41 例の末梢血由来 DNA を用いて、TREC 定量を行ったところ、17 例で TREC が検出感度以下(10 コピー/ μ gDNA)の低値を示した。24 例は、正常範囲内であった。

#3 CVID の責任遺伝子の探索 (今井、小原)

本年度は 14 例の CVID 疑い検体において、BAFFR (TNFRSF13C), CD19, ICOS, SH2DIA, TACI (TNFRSF13B) の遺伝子構解析を行ったが変異は見出されなかった。継続した解析の中でも今のところ上記遺伝子の異常は皆無である。

さらに、免疫不全症の責任遺伝子となりうる 1700 の候補を新たに開発した生物情報学的手法で抽出し、そのリストを研究班内に配布し、CVID 責任遺伝子となりうる候補についての検討を行った。これらの多数の候補遺伝子について、迅速に遺伝子構造解析が実施できるように、目的ゲノム領域のみを濃縮してくる方法を検討し、市販

されている DNA マイクロアレイを用いた方法 (Roche, NimbleGen シーケンスキャプチャー法) で非常に高い効率で目的ゲノム領域の濃縮が達成できることを確認した。

#4 CVID に合併する病態の解析

CVID 患者では 176 名中 17 名(9.7%)が悪性腫瘍を、173 名中 33 名(19.0%)が自己免疫疾患を発症していた。40 歳以上の 49 名に注目すると、悪性腫瘍は 22.4% に、自己免疫疾患は 36.7% に認められた。さらに抗体産生不全症ではあるが、3 名で抗核抗体が、1 名でリウマチ因子が検出された。

悪性腫瘍、自己免疫疾患発症と免疫機能については今後のデータ蓄積が必要である。

D. 考察

研究者が分担し、また共同して行った調査・検討により分類不能型免疫不全症の実態が明らかになり、新規診断基準の作成を行うことができた。

CVID は記憶 B 細胞あるいは形質芽細胞への分化異常という括りとしているが、その原因としては、B 細胞と相互作用し胚中心形成に重要な follicular helper T 細胞、follicular dendritic cells、分化に重要な転写因子、B 細胞の生存やアポトーシスに関与する分子、B 細胞の二次リンパ組織への流入や、そこからの流出に係る分子などの問題が想定される。

CVID の原因は多彩と思われるが、今回の検討により、marginal zone B 細胞が正常に存在するもの、transitional B 細胞が増加しているものなど、臨床症状や所見とあわせていくつかの group に分類できるものと推測している。

その成因の解明や、合併する自己免疫疾

患や悪性腫瘍の予防と治療のために、今後は責任遺伝子の特定が重要である。

一方、今までまとまったデータのなかった CVID の調査結果の公開、や診断の手引きにより、他分野の医師が共同で診療に当たれる体制ができることを期待している。

E. 結論

今年度の研究により、分類不能型免疫不全症（CVID）の全国調査が行われ、208名のデータが集積した。詳細なデータ及び、免疫学的解析から、日本版診断基準案を策定し、診断に当たっての参考基準を提示した。また20名以上の患者にて遺伝子解析を実施し、既知の遺伝子異常は極めて少ないことが明らかになった。

患者では特に40歳以上で自己免疫疾患及び悪性腫瘍の罹患率が高いことも判明している。

今後臨床データ、免疫学的解析結果、候補遺伝子探索を統合する体制が整い、CVIDの成因及び病態解明への道が拓けるものと考えている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

巻末に記載の通り

2. 学会発表

各分担研究者学会発表（G.2）参照

H. 知的財産の出願・登録状況

APPLICATION OF SYNOVIUM-DERIVED
MESENCHYMAL STEM CELLS (MSCs)
FOR CARTILAGE OR MENISUCUS

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

一次アンケート

調査票

貴施設名: _____
貴診療科名: _____
記載者のご芳名(email address): _____ @ _____

分類不能型免疫不全症、二次性を除く診断が確定していない低 γ グロブリン血症の患者さんを定期的に診療されていますか？

- ・ 分類不能型免疫不全症
有り なし 有りの場合は患者数 _____ 名
- ・ 二次性を除く診断が確定していない低 γ グロブリン血症
有り なし 有りの場合は患者数 _____ 名

それぞれの患者さんのプロフィール

分類不能型免疫不全症 1 (IgG _____ mg/dL, IgM _____ mg/dL, IgA _____ mg/dL)
年齢: _____ 才、性別:男性 女性、家族歴の有無: 有り なし、
自己免疫疾患の有無:有り なし、悪性腫瘍の有無: 有り なし
アレルギー性疾患の有無:有り なし、反復感染の有無: 有り なし
他の合併症:有り なし 有りの場合は病名 _____

二次性を除く診断が確定していない低 γ グロブリン血症 1

年齢: _____ 才、性別:男性 女性、家族歴の有無: 有り なし、
自己免疫疾患の有無:有り なし、悪性腫瘍の有無: 有り なし
アレルギー性疾患の有無:有り なし、反復感染の有無: 有り なし
他の合併症:有り なし 有りの場合は病名 _____

ご協力ありがとうございました。

CVID - 分類不能型免疫不全症 - に関する二次調査票

施設・記載者情報

貴施設名		診療科	
電話番号		Fax	
記載者氏名	先生	Email	

症例情報

症例イニシャル(名. 姓.)	症例生年月	性別
	西暦 年 月	1. 男 2. 女
臨床診断名	初発症状(感染症など)/その時の年齢	
分類不能型免疫不全症	/ 歳 か月	

遺伝子診断

1. 遺伝子変異あり	2. 検索中/遺伝子変異なし	3. 未施行
検査/確定遺伝子名		

発症時(初診時) Data

(治療前の Data、 治療開始後の Data)

白血球	リンパ球分画	免疫グロブリン
白血球数 / μ l	T細胞 %	IgG mg/dl
好中球 %	B細胞 %	IgA mg/dl
リンパ球 %	NK活性 %Lysis	IgM mg/dl

臨床・検査情報

脾腫	1. あり, 2. なし, 3. 不明	芽球化反応 PHA: cpm Con A: cpm
自己抗体	抗核抗体: 1. 倍, 2. 未施行	リウマチ因子(RA): 1. IU/mL, 2. 未施行
血液型ウラ試験	弱反応/陰性, 2. 異常なし, 3. 不	肺炎球菌抗体価 1. 施行(値: /), 2. 未施行
ワクチンへの低反応:	1. あり (ワクチン名と値を具体的に)	
ツベルクリン反応	1. 強陽性, 2. 陽性, 3. 擬陽性, 4. 陰性, 5. BCG未接	

1. ありの場合は右側の該当疾患をチェックし、その他の場合は()内に具体的な病名をご記載ください。

合併症

1	悪性腫瘍	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 悪性リンパ腫 <input type="checkbox"/> その他 ()	<input type="checkbox"/> 消化器癌
2	自己免疫疾患 /川崎病	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 関節リウマチ <input type="checkbox"/> ITP	<input type="checkbox"/> SLE <input type="checkbox"/> 川崎病 <input type="checkbox"/> AIHA <input type="checkbox"/> その他 ()
3	アレルギー	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 気管支喘息 <input type="checkbox"/> その他 ()	<input type="checkbox"/> アトピー性皮膚炎
4	神経疾患 (CNS感染症を含む)	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 脳症 <input type="checkbox"/> 脳膿瘍	<input type="checkbox"/> 脳炎 <input type="checkbox"/> 末梢神経炎 <input type="checkbox"/> 髄膜炎 <input type="checkbox"/> その他 ()
5	発達遅滞・ 中枢神経奇形	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 精神運動発達遅滞 <input type="checkbox"/> その他 ()	<input type="checkbox"/> 脳形成異常 <input type="checkbox"/> 小脳低形成
6	心・血管疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 拡張型心筋症 <input type="checkbox"/> 心内膜炎 <input type="checkbox"/> 先天性心疾患	<input type="checkbox"/> 肥大型心筋症 <input type="checkbox"/> 心外膜炎 <input type="checkbox"/> 心筋炎 <input type="checkbox"/> 不整脈 <input type="checkbox"/> その他 ()
7	呼吸器疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 間質性肺炎 <input type="checkbox"/> 肺嚢胞 <input type="checkbox"/> 気管支拡張症	<input type="checkbox"/> 肺高血圧症 <input type="checkbox"/> 拘束性肺障害 <input type="checkbox"/> 肺分画症 <input type="checkbox"/> COPD <input type="checkbox"/> 閉塞性肺障害 <input type="checkbox"/> その他 ()
8	腎・泌尿器疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 糸球体腎炎 <input type="checkbox"/> 血尿	<input type="checkbox"/> 尿細管障害 <input type="checkbox"/> 蛋白尿 <input type="checkbox"/> 尿路奇形 <input type="checkbox"/> その他 ()
9	消化器疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 炎症性腸疾患 <input type="checkbox"/> その他	<input type="checkbox"/> 十二指腸閉鎖 <input type="checkbox"/> 鎖肛
10	肝・胆・膵疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 急性肝炎 <input type="checkbox"/> 肝硬変	<input type="checkbox"/> 慢性肝炎 <input type="checkbox"/> その他 () <input type="checkbox"/> 胆道閉鎖症
11	眼疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> CMV網膜炎 <input type="checkbox"/> その他 ()	<input type="checkbox"/> ぶどう膜炎 <input type="checkbox"/> coloboma
12	耳鼻科疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 難聴 <input type="checkbox"/> その他 ()	
13	筋・骨・関節疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 骨粗鬆症 <input type="checkbox"/> 関節炎	<input type="checkbox"/> 骨硬化症 <input type="checkbox"/> 脊椎炎 <input type="checkbox"/> 骨炎/骨髄炎 <input type="checkbox"/> その他 ()
14	皮膚疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 伝染性軟属腫 <input type="checkbox"/> 掌蹼角化症	<input type="checkbox"/> 疣贅 <input type="checkbox"/> その他 () <input type="checkbox"/> 乾癬
15	代謝・内分泌疾患	1. あり 2. なし 3. 不明	<input type="checkbox"/> 1型糖尿病 <input type="checkbox"/> Addison病	<input type="checkbox"/> Basedow病 <input type="checkbox"/> その他 () <input type="checkbox"/> 橋本病
16	その他	1. あり 2. なし 3. 不明		

その他患者さんで気になることがございましたら、裏面に自由にご記載ください。お忙しい中ご協力ありがとうございました。

平成 21 年度難治性疾患克服研究事業

「成人型分類不能型免疫不全症の実態把握、亜群特定に基づく診断基準策定及び病態解明に関する研究」第
1 回研究会議

日時：平成 21 年 9 月 12 日（土）9：00～14：00

場所：東京医科歯科大学医学部附属病院 16 階 小会議室

http://www.tmd.ac.jp/contents2006/map_j.html（救急入口から入り奥のエレベータで 16F まで）

プログラム

研究班の概要について

9:00～9:10 森尾友宏（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野）

第一部：これまでの研究と今年度の研究計画について

座長（金兼弘和先生）

9:10～9:25 今井耕輔先生（防衛医科大学校医療情報部）

9:25～9:40 金兼弘和先生（富山大学医学部小児科）

9:40～9:55 竹森利忠先生（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）

座長（竹森利忠先生）

9:55～10:10 小原 収先生（理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター、
ヒトゲノミクス研究グループ、かずさ DNA 研究所ヒト遺伝子研究部）

10:10～10:25 松本 功先生（筑波大学大学院・人間総合科学研究科・臨床免疫学）

10:25～10:40 森尾友宏（東京医科歯科大学大学院・発生発達病態学分野）

休憩

10:40～10:50

第二部：総合討論

10:50～12:00

- 1) 分類不能型免疫不全症(CVID)亜群分類について
- 2) CVID の責任遺伝子・病態解析について
- 3) CVID における自己免疫疾患とその病態解析について
- 4) CVID 全国二次調査と研究体制について
- 5) CVID の診断基準策定について
- 6) その他

昼食・休憩（総合討論）

12:00～13:00

第三部：グループ別討論

13:00～16:00

コンピュータ (Windows Vista)、液晶プロジェクタ、ポインターを用意しております。当日は USB、CD/DVD、あるいはご自身のコンピュータをご持参いただくようお願い申し上げます。

分類不能型免疫不全症診断基準(案)

背景と概念

Common variable immunodeficiency (CVID)は、従来分類不能型免疫不全症と翻訳されていたが、発症数が多く(Common)、多彩な臨床症状をとる(Variable)、分類不能な疾患であるために暫定的につけられた名称がそのまま用いられている。

ヨーロッパ免疫不全症研究会の診断基準では、年齢、免疫グロブリン値、特異抗体産生低下、他の疾患の除外があげられているのみであるが、CVID研究班の全国調査においても、実際の診断基準をすべて検討した症例は限られていることが明らかになった。

近年、CVIDの病態が明らかになり、一部では原因遺伝子も判明しつつある。各国からの報告や、全国調査からは、CVIDと診断される患者の中に(1) 複合免疫不全症(Combined Immunodeficiency)、(2) 免疫グロブリンクラススイッチ異常症(高IgM症候群)、(3) 伴性劣性リンパ増殖性症候群(X-linked lymphoproliferative disorder)などの疾患が含まれていることが明らかになった。

「分類不能型」という名称と、不明瞭な診断基準から、正確な診断と適切な治療が妨げられている可能性があり、病態を反映する新しい疾患名と診断基準が必要と考えられる。

現在のところ、CVIDは、「成熟Bリンパ球、特に記憶B細胞、および抗体産生細胞である形質細胞への分化障害による低 γ グロブリン血症を認め、易感染性を呈する先天性免疫不全症候群」と考えられている。すなわち、B前駆細胞等の障害による末梢血Bリンパ球の減少を伴わず(B細胞欠損症の除外)、免疫グロブリンクラススイッチ障害を伴わない疾患群である。

以上より本研究班では、分類不能型免疫不全症という名称から、今後暫定的に、抗体産生不全型免疫不全症(Defect of antibody production)をCVIDの和訳として用いることを提案する。

診断基準

- ① IgG及びIgMの低値(年齢を考慮し2SD以下)
- ② IgAは正常あるいは低値(年齢を考慮し2SD以下)
- ③ 2歳以降の発症
:2才未満の低 γ グロブリン血症では、参考基準にあげる先天性免疫不全症、および乳児一過性低 γ グロブリン血症の除外が必要。
- ④ 末梢血B細胞 >1.0%
- ⑤ 記憶B細胞(CD27+CD19+ or CD27+CD20+)への分化異常(記憶B細胞/全B細胞 <10%)
あるいは形質細胞への分化異常
- ⑥ T細胞増殖能正常
- ⑦ 既知の免疫不全症、特にB細胞欠損症、クラススイッチ異常症、を除外できる
(参考基準参照)
- ⑧ 悪性腫瘍、化学療法、感染症などに伴う二次性免疫不全症を除外できる

参考基準

1. CVIDの原因遺伝子として以下のものが知られている。
 - (1) CD19複合体分子異常:*CD19, CD21, CD81**
 - (2) 副刺激分子異常:*ICOS, TACI, BAFF-R**
2. CVIDと鑑別が必要な免疫不全症として以下の遺伝子の異常がある。
 - (1) B細胞欠損症**
BTK, IFHM, CD79A, CD79B, λ5, BLNK
 - (2) X連鎖リンパ増殖性疾患*
SAP, XIAP, ITK
 - (3) 複合型免疫不全症(SCIDを含む)**
ADA, CD25, STAT5b, ITK, DOCK8, LIG4, NHEJ1, RMRP, ATM
 - (4) 免疫グロブリンクラススイッチ異常症(高IgM症候群)***
CD40LG, CD40, AID, UNG, PMS2, RNF168, NEMO
 - (5) 胸腺腫を伴う免疫不全症**** (年長者が大半である)
 - (6) IgGサブクラス異常症
 - (7) その他
ICF, VODI, WHIM
3. IgA欠損症の経過中にCVIDに移行することがあり、また逆の場合もある。
4. 肺炎球菌ワクチン、インフルエンザ桿菌ワクチンに対する抗体産生能不良、同種血球凝集素反応の低下などを認めることがある。麻疹、風疹、インフルエンザなどに対する抗体産生は様々である。
5. B細胞以外の免疫担当細胞の機能異常を認めることがある。
6. 貧血、血小板減少、脾腫、乾癬、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病などの自己免疫疾患を30-50%で合併する。
7. 10-20%で悪性腫瘍を合併する。

註:

* FACSにて第一次解析が可能である(TACIを除く)。

** KREC, TREC 測定が有用である。

*** CD40, CD40LG, NEMO などは FACS により検討することが可能である。

****年長者が大半であることに注意する。

III 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

成人型分類不能型免疫不全症の実態把握、亜群特定に基づく診断基準策定及び
病態解明に関する研究

研究代表者 森尾 友宏 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野

研究要旨：

分類不能型免疫不全症(Common variable immunodeficiency:CVID)の実態を調査し、診断における問題を明らかにするとともに、その病態解析を行うために、CVID の全国調査を行い、CVID 患者の血液検体を用いて、B 細胞亜群解析、T 細胞亜群解析、既知の遺伝子解析を行った。その結果、CVID においては比較的早期から発症している症例があること、大半で記憶 B 細胞及び形質芽細胞の減少が認められること、T 細胞増殖能は正常であること、54%でT細胞受容体β鎖のレパートアに偏りがあること、ICOS, TACI, BAFF-R, CD19 など既知の遺伝子異常症はほとんど認められないことなどが明らかになった。これらの情報を元に、CVID の診断基準案の策定を行った。

A. 研究目的

分類不能型免疫不全症 (Common variable immunodeficiency : CVID) は頻度の高い原因不明の免疫不全症の一つであるが、その実態、病態、合併疾患の成立機序は未だに明らかになっていない。本研究では成人型 CVID の実態を把握し、疾患概念を整理・亜群分類し、本疾患の病態及び本態を解明することを目的とした。そのために、成人領域を中心としてアンケート調査を行い、CVID の血液検体を用いて、免疫学的解析を実施し、病態を解析した。

B. 研究方法

1) CVID 全国調査

研究分担者の田中敏郎、松本功が中心となって、全国 1153 施設に一次アンケートを送付し、410 施設より回答があり、71 名の一次登録となった。11 月に二次アンケートを送付し、43 施設中 33 施設から回答があり、71 名中、56 名の二次情報が集積した。その中で、免疫学的解析及び検査データについて集積を行った。

2) CVID 患者の免疫能解析

二次アンケート調査にて解析希望のあった 24 名において、以下のリンパ球表面抗原分析を行った。実際には EDTA-2Na 採血から得た血液に各種抗体を加え反応させた後、

赤血球を融解し、EPICS-XL あるいは FACS Calibur にて 3/4 パラメータ解析を行った。

また一部の患者においては T 細胞からのサイトカイン産生を検討した。

用いた抗体の組み合わせは以下の通りである。

B 細胞

CD19	CD20	CD21	CD81
CD20	CD27	IgM	IgD
CD20	CD27	CD24	CD38
CD20	CD27	CD10	CD38

T 細胞 (及び NK 細胞)

CD3	TCRa b	CD4	CD8
CD3	TCRa b	TCRg d	HLADR
CD4	CD45RO	CCR7	CD62L
CD4	CD45RA		
CD8	CD45RO	CCR7	CD62L
CD4	CD25	IL7R	FoxP3
CD8	CXCR3		
CD16	CD56		

(倫理面への配慮)

本研究は、患者検体を用いて解析を行うものである。診療に役立つ情報が得られる

が、採取量及び、採取時の苦痛には十分な配慮を行った。

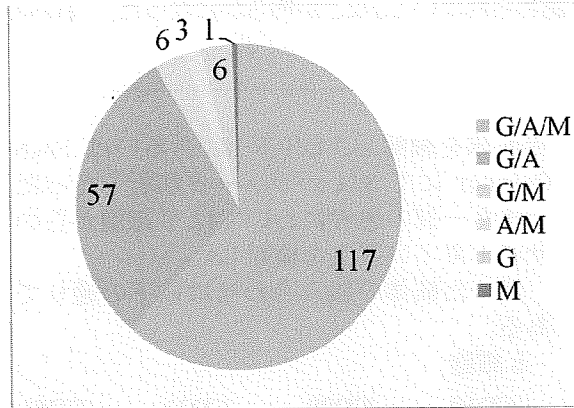
また遺伝子解析については各種指針に則り、患者個人情報の保護について十分な配慮を行って行った。

なお本研究は、東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会及び東京医科歯科大学医学部遺伝子解析研究に関する倫理審査委員会による承認を得て行った。

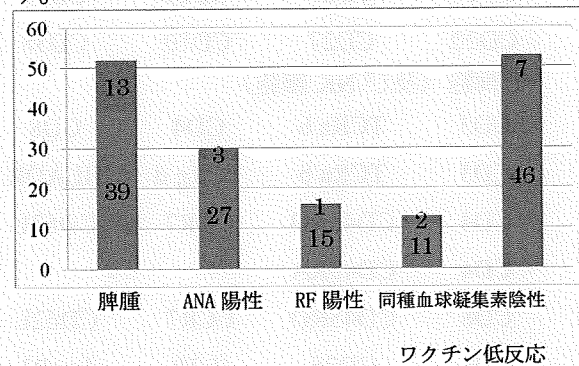
C. 研究結果

1) CVID 全国調査 (身体所見、検査所見及びESID 診断基準)

IgG, A, M については、下記のごとく IgM が正常あるいは高値を示す症例が 57 名であったが、170 名において診断基準を満たしていた。



その他の身体所見及び抗体価を下記に示す。



診断基準の 1 つとなっている同種血球凝集素陰性あるいはワクチンに対する低反応については 9 名にて確認されていた。

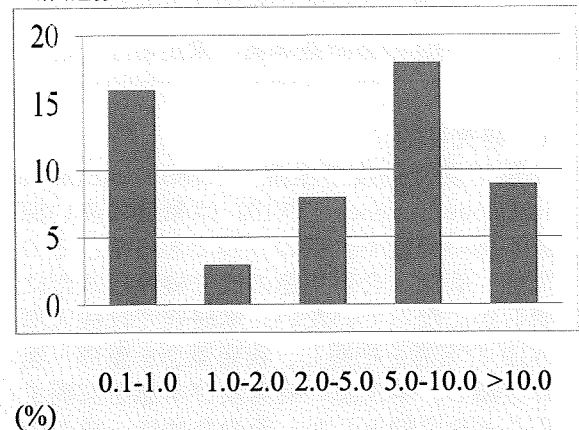
低 γ グロブリン血症を除外している患者は 16 名であり、全体の 10% 以下が ESID の

CVID 基準を満たすに過ぎなかった。

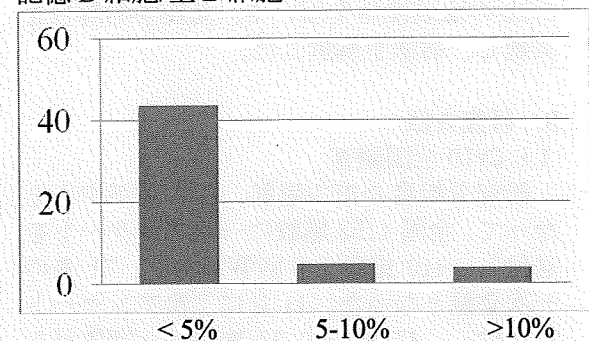
1) CVID の病態解析

班員の属する東京医科歯科大学、防衛医科大学でフォローする 59 名の CVID 患者及び、アンケートから免疫能検査を希望する 30 名をあわせた 89 名において、B 細胞サブセット、T 細胞サブセット解析を行った。一部の患者においてはサイトカイン産生能や候補責任遺伝子解析 (ICOS, TACI, BAFF-R, SH2DIA, CD19) を実施した。B 細胞の解析結果のまとめを以下に示す。

B 細胞数



記憶 B 細胞/全 B 細胞



16 名で B 細胞数が <1% 以下であり、これらの患者では Kappa deleting recombination excision circles (KRECs) の結果とあわせた解釈が必要と考えられる。一方ほぼ全例でスイッチ記憶 B 細胞の減少および形質芽細胞の減少が認められた。さらに詳細な解析では、Marginal zone B 細胞は正常群と低下群

の2群があること、Transitional B細胞の増加する1群があることなどが判明している。

T細胞ではほぼ全例でT細胞増殖能は正常であったが、一方T細胞レセプターVβの偏りが54%にて認められた。T細胞サブセットにおいては一定の異常は認めなかったが、memory Tが減少しているものがあつた。

インターフェロンγ、IL-4、IL-10、IL-17、IL-22産生能は今まで10名程度での解析が終了しているが、ICOS欠損症などでその産生低下が認められた。

D. 考察

今回の解析により、CVIDは以前から示唆されているように、「記憶B細胞の減少及び形質芽細胞の減少」で括ることができるものと考えられる。B細胞の分化は様々な段階で障害されており、今後各段階への進展に重要な転写因子、表面抗原分子、各段階の生存に必要な分子、細胞死を誘導する分子、細胞の遊走や接着に関連する分子などを体系的に検討していく予定である。

今後はT細胞、樹状細胞などにも着目して体系的な解析を終了し、亜群分類から疾患の本態に迫る解析を行う必要がある。

90名近い患者の免疫学的データ及び検体の蓄積は貴重である。臨床的には診断基準案を提案するが、免疫学的データのまとめとともに統合して、今後医療者や患者への情報公開を行いたいと考えている。

E. 結論

CVIDの全国調査及び免疫学的解析から、その実態の一部が明らかになった。CVIDでは記憶B細胞及び形質芽細胞の減少があり、B細胞自体の生成や、T細胞自体の新生能には異常がないと定義すべきと判断した。

全国調査結果及び免疫学的データを元に、よりUser friendlyな診断基準が策定された(総括報告参照)。

90名近い患者検体と詳細な免疫学的解析から、B細胞の成熟異常の詳細が明らかになり、今後の病態解明に向けた大きなステップとなった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, Notarangelo LD, Burns S, Imai K, Espanol T, Fasth A, Pellier I, Strauss G, **Morio T**, Gathmann B, Noordzij JG, Fillat C, Hoenig M, Nathrath M, Meindl A, Pagel P, Wintergerst U, Fischer A, Thrasher AJ, Belohradsky BH, Ochs HD. X-linked thrombocytopenia (XLT) due to WAS mutations: Clinical characteristics, long-term outcome, and treatment options. *Blood*. 2010 Feb 19. [Epub ahead of print]

2. Oba D, Hayashi M, Minamitani M, Hamano S, hisaka N, Kikuchi A, Kishimoto H, Takagi M, **Morio T**, Mizutani S. Autopsic study of cerebellar degeneration in sibs with ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD). *Acta Neuroathologica*. 2010. (in press).

3. Inoue H, Takada H, Kusuda T, Goto T, Ochiai M, Kinjo T, Muneuchi J, Takahata Y, Takahashi N, **Morio T**, Kosaki K, Hara T. Successful cord blood transplantation for a CHARGE syndrome with CHD7 mutation showing DiGeorge sequence including hypoparathyroidism. *Eur J Pediatr*. 2010 Jan 6. [Epub ahead of print]

4. Nanki T, Takada K, Komano Y, **Morio T**, Kanegane H, Nakajima A, Lipsky PE, Miyasaka N. Chemokine receptor expression

and functional effects of chemokines on B cells: implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2009 Oct 5;**11(5)**:R149. [Epub ahead of print]

5. Miyanaga M, Sugita S, Shimizu N, **Morio T**, Miyata K, Mochizuki M. A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2009 Sep 3. [Epub ahead of print]

6. Hasegawa D, Kaji M, Takeda H, Kawasaki K, Takahashi H, Ochiai H, **Morio T**, Omori Y, Yokozaki H, Kosaka Y. Fatal degeneration of specialized cardiac muscle associated with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Pediatr Int.* **51**:846-8, 2009.

7. Miyagawa Y, Kiyokawa N, Ochiai N, Imadome K-I, Horiuchi Y, Onda K, Yajima M, Nakamura H, Katagiri YU, Okita H, **Morio T**, Shimizu N, Fujimoto J, Fujiwara S. *Ex vivo* expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin. *Immunology* **128**:405-419, 2009.

8. Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, Sato H, Horiuchi K, Ohtsuka Y, Kaneda Y, Taga T, Hisakawa H, Miyaji R, Endo M, Oh-Ishi T, Kamachi Y, Akahane K, Kobayashi C, Tsuchida M, **Morio T**, Sasahara Y, Kumaki S, Ishigaki K, Yoshida M, Urabe T, Kobayashi N, Okimoto Y, Reichenbach J, Hashii Y, Tsuji Y, Kogawa K,

Yamaguchi S, Kanegane H, Miyawaki T, Yamada M, Ariga T, Nonoyama S. . *J. Pediatr.* **155**: 829-833, 2009.

9. **Morio T**, Takahashi N, Watanabe F, Honda F, Sato M, Takagi M, Imadome KI, Miyawaki T, Delia D, Nakamura K, Gatti RA, Mizutani S. Phenotypic variations between affected siblings with ataxia-telangiectasia: ataxia-telangiectasia in Japan. *Int. J. Hematol.* **90**:455-462, 2009.

10. Isoda T, Ford A, Tomizawa D, van Delft F, De Castro DG, Mitsuiki N, Score J, Taki T, Takagi M, **Morio T**, Saji H, Greaves M, Mizutani S. Immunologically silent cancer clone transmission from mother to offspring. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **106**: 17882-5. 2009.

11. Uchisaka N, Takahashi N, Sato M, Kikuchi A, Mochizuki S, Imai K, Nonoyama S, Ohara O, Watanabe F, Mizutani S, Hanada R. **Morio T**: Two brothers with ataxia-telangiectasia-like disorder with lung adenocarcinoma. *J. Pediatr.* **155**:435-438, 2009.

12. Futagami Y, Sugita S, Fujimaki T, Yokoyama T, **Morio T**, Mochizuki M. Bilateral anterior granulomatous keratouveitis with sunset glow fundus in a patient with autoimmune polyglandular syndrome. *Ocul Immunol Inflamm.* **17**:88-90, 2009.