

22. Kato I, Niwa A, Saito M, Fujino H, Saida S, Hiramatsu H, Oshima K, Ito M, Adachi S, Heike T, Nakahata T: Establishment of a novel CNS infiltrated xenograft model through engraftment of patient-derived acute lymphoblastic leukemic cell into NOD/SCID/ γ c^{null} mouse. 52nd Annual Meeting of the AMERICAN SOCIETY of HEMATOLOGY, December 4-7, 2010, Orland, Florida

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 発明の名称

METHOD FOR PRODUCING MAST CELLS FROM PLURIPOTENT STEM CELLS

2. 国際出願日：2010年9月8日

3. 国際出願番号：PCT/JP2010/065893

【文献】

1. Kato I, Umeda K, Awaya T, Yui Y, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Watanabe K, Heike T, Adachi N, Endo H, Mizukami T, Nuno H, Nakahata T, Adachi S.: Successful treatment of refractory donor lymphocyte infusion-induced immune-mediated pancytopenia by Rituximab. *Pediatr Blood Cancer*. 54: 329-331, 2010.
2. Sakai H, Ito S, Nishikomori R, Takaoka Y, Kawai T, Saito M, Okafuji I, Yasumi T, Heike T, Nakahata T. : A case of early-onset sarcoidosis with a six-base deletion in the NOD2 gene. *Rheumatology (Oxford)*. 49: 194-196, 2010.
3. Kubota M., Adachi S., Usami I., Okada M., Kitou T., Shiota M., Taniguchi Y., Tanizawa A., Nanbu M., Hamahata K., Fujino H., Matsubara K., Wakazono Y., Nakahata T.: Characterization of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura in Japanese children: a retrospective multi-center study. *Int. J. Hematol*. 91:252-257,2010.
4. Mizuno Y., Chang H., Umeda K., Niwa A., Iwasa T., Awaya T., Fukada S., Hiroshi Yamamoto H., Yamanaka S., Nakahata T, Heike T.: Generation of skeletal muscle stem/progenitor cells

from murine induced pluripotent stem cells. *FASEB J*. 24:2245-2253, 2010.

5. Kuroda Y., Kitada M., Wakao S., Nishikawa K., Tanimura Y., Makinoshima H., Goda M., Akashi H., Inutsuka A., Niwa A., Nabeshima Y., Nakahata T, Nabeshima Y., Fujiyoshi Y., Dezawa M.: Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:8639-8643, 2010.
6. Suzuki N, Yumura-Yagi K, Yoshisa M, Hara J, Nishimura S, Kudoh T, Tawa A, Usami I, Tanizawa A, Hori H, Ito Y, Miyaji R, Oda M, Kato K, Hamamoto K, Osugi Y, Hashii Y, Nakahata T, Horibe K: Outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with induction failure treated by the Japan Association of Childhood Leukemia Study (JACLS) ALL F-protocol. *Pediatric Blood Cancer*. 54(1):71-78, 2010.
7. Takeuchi M., Kimura S., Kuroda J., Ashihara E., Kawatani M., Osada H., Umezawa K., Yasui E. Imoto M., Tsuruo T., Yokota A., Tanaka R., Nagao R., Nakahata T, Fujiyama Y., Maekawa T.: Glyoxalase-I is a novel target against Bcr-Abl+ leukemic cells acquiring stem-like characteristics in a hypoxic environment. *Cell Death Diff*. 17:1211-1220, 2010.
8. Mizushima Y., Taki T., Shimada A., Yui Y., Hiraumi Y., Matsubara H., Watanabe M., Watanabe K., Kamitsuji Y., Hayashi Y., Tsukimoto I., Kobayashi R., Horibe K., Tawa A., Nakahata T, Adachi S.: Prognostic significance of the BAALC isoform pattern and CEBPA mutations in pediatric acute myeloid leukemia with normal karyotype: a study by the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Int. J. Hematol*. 91:831-837,2010.
9. Matsuda K., Taira C., Sakashita K., Saito S., Yanagisawa MT., Yanagisawa R., Yozo Nakazawa Y., Shiohara M., Fukushima K., Oda M., Honda T., Nakahata T, Koike K.: Long-term survival after non-intensive chemotherapy in some juvenile myelomonocytic leukemia patients with *CBL* mutations, and the possible presence of normal individuals with the mutations. *Blood* 115:5429-5431, 2010.
10. Matsuse D., Kitada M., Kohama M., Nishikawa K., Makinoshima H., Wakao S., Fujiyoshi Y.,

- Heike T., Nakahata T., Akutsu H., Umezawa A., Harigae H., Kita J., Dezawa M.: Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells differentiate into functional Schwann cells that sustain peripheral nerve regeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 69:973-985,2010.
11. Kumada T., Yamanaka Y., Kitano A., Shibata M., Awaya T., Kato T., Okawa K., Abe T., Oshima N., Nakahata T., Heike T.: Ttyh1, a Ca²⁺-binding protein localized to the endoplasmic reticulum, is required for early embryonic development. *Develop. Dynam.* 239:2233-2245,2010.
12. Kaichi S., Hasegawa K., Takaya T., Yokoo N., Mima T., Kawamura T., Morimoto T., Baba S., Doi H., Yamanaka S., Nakahata T., Heike T.: Cell line-dependent differentiation of induced pluripotent stem cells into cardiomyocytes in mice. *Cardiovascular Res.* 88: 314-323, 2010
13. Iwasa T., Baba S., Doi H., Kaichi S., Yokoo N., Mima T., Kanatsu-Shinohara M., Shinohara T., Nakahata T., Heike T.: Neonatal mouse testis-derived multipotent germline stem cells improve the cardiac function of acute ischemic heart mouse model. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 400: 27-33, 2010
14. Kusunoki T, Morimoto T, Nishikomori R, Yasumi T, Heike T, Fujii T, Nakahata T.: The effect of past food avoidance due to allergic symptoms on the growth of children at school age. *Allergology International.* 59: 369-374, 2010
15. Yui Y., Itoh K., Yoshioka K., Naka N., Watanabe M., Hiraumi Y., Matsubara H., Watanabe K., Sano K., Nakahata T., Adachi S.: Mesenchymal mode of migration participates in pulmonary metastasis of mouse osteosarcoma LM8. *Clin Exp Metastasis.* in press
16. Morishima T., Watanabe K., Niwa A., Fujino H., Matsubara H., Adachi S., Suemori H., Nakahata T., Heike T.: Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells. *J. Cell. Physiol.* in press.
17. 中畑龍俊：造血因子と臨床応用。臨床検査（第54巻第6号）623-629, 2010.
18. 中畑龍俊：iPS細胞と遺伝性疾患（特集 臨床遺伝学の進歩と日常診療。遺伝性疾患の新しい治療と今後期待される治療研究）日本医師会雑誌 139(3):632-634, 2010.

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

千葉 滋 (筑波大学大学院人間総合科学研究科)

研究要旨

ヒト由来の造血幹細胞やiPS細胞などから体外で免疫担当細胞を誘導する技術を確立できれば、免疫不全症の病態解明や新たな原因遺伝子の同定、免疫不全病態の解明、さらには治療法開発などへの応用が期待できる。

今年度は、アレルギー反応への関与が注目される一方で、重要な免疫担当細胞の一つである肥満細胞についての研究を推進した。すなわち、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、造血前駆細胞から肥満細胞を誘導する方法およびその機序について、および肥満細胞が個体内で寄生虫を排除する機序について研究を行った。

まず、マウス骨髄より骨髄系造血前駆細胞を分取し、可溶性Notchリガンドを加えて培養することにより、短時間に大多数の細胞が肥満細胞に分化することを確認した。また、この培養では選択的に粘膜型肥満細胞が産生されることも明らかにした。さらに、肥満細胞を欠損するマウスやNotch2遺伝子コンディショナルノックアウトマウスへの消化管寄生虫感染実験により、Notch2受容体からのシグナル依存性に肥満細胞が消化管で寄生虫排除に重要な役割を果たすことを示した。

肥満細胞による生体防御機構には未だ不明な点が多いが、その一端を解明した本研究成果は、免疫不全症の病態解明に一定の寄与をすると考えられる。

A : 研究目的

さまざまな幹細胞ソースから免疫担当細胞への分化培養系確立をめざす。今年度は、アレルギー反応への関与が注目されるものの、重要な免疫担当細胞の一つである肥満細胞についての研究を推進することを目的とした。

B : 研究方法

まず、マウス骨髄より骨髄系造血前駆細胞を分取し、これを幹細胞因子(SCF)やインターロイキン-3 (IL-3)といったサイトカインとともに、可溶性Notchリガンドを加えて培養した。培養した細胞は、フローサイトメトリー法で種々の細胞表面抗原発現を、定量RT-PCR法で種々の肥満細胞特異的プロテアーゼ発現を調べることにより、分化を評価した。これらの実験は、野生型およびコンディショナルにNotch2遺伝

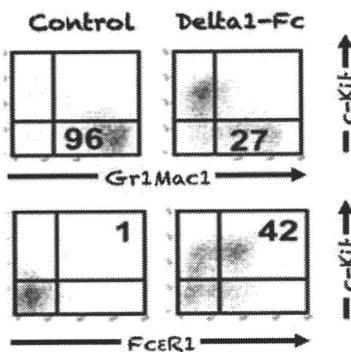
子を欠損させたC57Bl/6マウス骨髄由来細胞を用いて行った。

さらに、肥満細胞を欠損しているWshマウスおよびコンディショナルNotch2遺伝子欠損(N2cKO)マウスに腸管寄生中を感染させ、腸管粘膜における肥満細胞の分布と寄生虫排除を検討した。同様の検討は、野生型マウスあるいはN2cKOマウス由来の骨髄細胞や、骨髄由来培養肥満細胞を移植した場合についても行った。

C : 研究結果

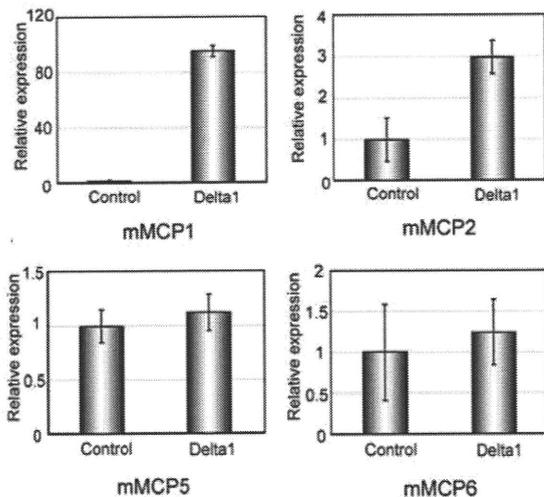
1. Notchシグナルの肥満細胞分化への寄与 : 骨髄系造血前駆細胞に対して、可溶性NotchリガンドDelta1-Fcによりシグナルを付与すると、5〜7日という短期間にほとんどの細胞が肥満細胞に分化した。N2cKOマウス由来の細胞では、Delta1-Fc刺激を加えてもこのような減少は起

きなかったため、この現象はNotch2受容体を介するものと結論した (図1)



[図1] 骨髄系前駆細胞のDelta1-Fc刺激による肥満細胞分化。Delta1-Fc刺激によりGr1Mac1陽性の顆粒球・マクロファージへの分化が抑制され、c-Kit陽性、Fc・R1陽性の肥満細胞への分化が促進されている。

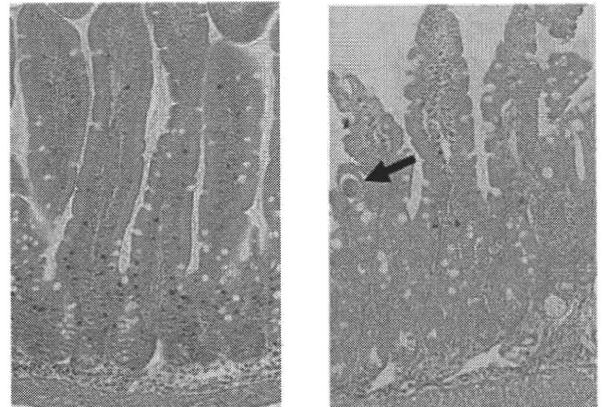
一方、Delta1-Fc刺激を行わなくとも長期培養後に肥満細胞が出現した。これらの肥満細胞をDelta1-Fc刺激ありなしで肥満細胞特異的プロテアーゼの発現を検討したところ、Delta1-Fc刺激を加えるとmMCP1やmMCP2といった粘膜型肥満細胞に特異的なプロテアーゼ発現が亢進し、Notchシグナルが粘膜型肥満細胞への分化を誘導することが推察された (図2)。



[図2] 骨髄由来肥満細胞へのNotchシグナル付与による粘膜型肥満細胞特異的プロテアーゼ発現の増加。

2. 腸管粘膜における肥満細胞制御と寄生虫免疫におけるNotchシグナルの寄与：N2cKOの小腸粘膜では、肥満細胞の上皮内分布に異常が障害されていた。ベネズエラ糞線虫(SV)を感染

させた野生型マウスでは、小腸粘膜上皮に肥満細胞が増加し、SVは速やかに排虫された。一方、N2cKOマウスでは、小腸粘膜に肥満細胞が増加するものの、粘膜下層に留まり上皮内への移行が障害されていた。また、SVの排虫が遅延していた (図3)。



[図3] 小腸粘膜における肥満細胞の上皮局在と寄生虫排虫へのNotch2シグナルの寄与。トルイジンブルーで染色される肥満細胞は、野生型では上皮に局在するが、N2cKOマウスでは粘膜下層に局在している。また、N2cKOマウスでは寄生虫が残存している (←)。

N2cKOマウス骨髄細胞を野生型マウスに移植、あるいはN2cKOマウス骨髄由来培養肥満細胞をWshマウスに移植する実験においても、小腸粘膜において肥満細胞が上皮に局在するために、Notch2受容体を介するシグナルが必須であることが証明された。

D：考察

本研究では、肥満細胞依存性の排虫が知られているSV感染モデルを用いて、粘膜免疫にNotchシグナルが重要な機能を果たすことを示した。粘膜免疫には不明な点も多く、肥満細胞が果たす役割についてさらに追求することにより、一部の免疫不全症患者の病態解明、あるいは疾患の管理に有用な重要な情報が得られる可能性がある。

E：結論

肥満細胞分化および小腸粘膜免疫にNotch2受容体を介するシグナルは重要な役割を果た

している。

該当なし

F : 研究発表

(1) 論文発表

1. Sakata-Yanagimoto M, Sakai T, Miyake Y, Saito TI, Maruyama H, Morishita Y, Nakagami-Yamaguchi E, Kumano K, Yagita H, Fukayama M, Ogawa S, Kurokawa M, Yasutomo K, Chiba S. Notch2 signaling is required for proper mast cell distribution and mucosal immunity in the intestine. *Blood* 117(1):128-134, Jan 6, 2011

2. Sugumito K, Maekawa Y, Kitamura A, Nishida J, Koyanagi A, Yagita H, Kojima H, Chiba S, Shimada M, Yasutomo K. Notch2 signaling is required for potent anti-tumor immunity in vivo. *J Immunol* 184(9):4673-4678, May 1, 2010

3. Nakahara F, Sakata-Yanagimoto M, Komeno Y, Kato N, Uchida T, Haraguchi K, Kumano K, Harada Y, Harada H, Kitaura J, Ogawa S, Kurokawa M, Kitamura T, Chiba S. Hes1 immortalizes committed progenitors and plays a role in blast crisis transition in chronic myelogenous leukemia. *Blood* 115(14): 2872-2881, Apr 8, 2010

(2) 学会発表

1. Sakata-Yanagimoto M, Chiba S. Notch signaling as a mediator of myeloid differentiation and leukemic transformation. 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会 (ワークショップ). 2010年12月7-10日 (神戸).

2. Chiba S. Distinct roles of Notch signaling and Hes-1 on hematopoietic cell differentiation fate. Notch and Stem Cells. 3-6 Oct, 2010 (Athens, Greece).

G : 知的財産権の出願・登録状況

CINCA 症候群/NOMID 主要病因としての NLRP3 体細胞モザイク

西小森 隆 太 (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)
田 中 尚 子 (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)
井 澤 和 司 (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)
八 角 高 裕 (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)
小 原 收 (かずさDNA研究所)
(理化学研究所横浜研究所免疫アレルギー科学総合研究センター)
作 間 未 緒 (京都大学大学院医学研究科医学教育推進センター)
森 本 剛 (京都大学大学院医学研究科医学教育推進センター)
齋 藤 潤 (京都大学 iPS 細胞研究所)
平 家 俊 男 (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)

研究要旨

Chronic infantile neurological cutaneous and articular (CINCA) 症候群/NOIMD (Neonatal onset multisystem inflammatory disease) は NLRP3 インフラマゾームの異常活性化による IL-1 β 過剰産生に伴い全身炎症を生じる自己炎症疾患である。約 60%の患者で NLRP3 遺伝子に変異が同定されるが、それ以外の患者の病因は不明であった。我々は体細胞モザイクを有する本邦 CINCA/NOMID 症例 4 例を報告したが、症例数が少ないこと、本邦のみでの研究であったことより、その意義づけ、臨床像には不明な点が多かった。今回、海外 CINCA/NOMID 主要研究施設 (4 カ国) の国際協力のもと、NLRP3 変異陰性 CINCA/NOMID 症例で体細胞モザイクを検討した。NLRP3 変異陰性 CINCA/NOMID 患者およびその家族の DNA 検体の提供を受けサブクローニングによるシークエンス解析をおこなった。26 症例の患者の内 18 症例に体細胞モザイクを同定した。頻度は 4.3~35.8% (mean \pm SD:12.1 \pm 7.9%) であった。19 例の患者家族に体細胞モザイクは同定されなかった。また in vitro 機能解析にて、同定された遺伝子異常の疾患関連性を確認した。以上より CINCA/NOMID 診断には NLRP3 体細胞モザイクの検討が不可欠であり、CINCA/NOMID の主要原因の 1 つと考えられた。

A、研究目的

CINCA 症候群/NOMID

(CINCA/NOMID) は、蕁麻疹様発疹、神経症状、関節症状を 3 主徴とする自己炎症疾患である。責任遺伝子として NLRP3

遺伝子が同定され、常染色体優性遺伝することが知られている。その遺伝学的な特徴として de novo 変異が多数をしめ、また約 40%に NLRP3 遺伝子変異を同定されないことが知られている。さらにその

臨床所見、治療薬に対する反応性において、NLRP3 変異のあるなしで変化が無いことが報告されている。

2005年、我々はNLRP3 遺伝子体細胞モザイクで発症した世界初のCINCA/NOMID 症例を報告した。その後、本邦でのNLRP3 遺伝子変異陰性CINCA/NOMID の集積により、4例中3例にNLRP3 体細胞モザイクを同定した。以上の結果を踏まえ、本邦以外及び他人種でのNLRP3 変異陰性CINCA/NOMID 中のNLRP3 体細胞モザイク頻度を検討しNLRP3 体細胞モザイクがCINCA/NOMID の原因としてどのくらい寄与しているかCINCA/NOMID 海外主要研究施設との共同研究をおこなった。

B、研究方法

NLRP3 変異陰性CINCA/NOMID 症例のDNA 検体を、フランス（ネッカー小児病院、6例）、アメリカ（NIAMS/NIH、6例）、スペイン（バルセロナ病院、3例）、オランダ（ユトレヒト大学、4例）より集積した。また既報告例の日本症例6例、スペイン症例1例も解析に加えた（計26症例）。また正常コントロールとして、健康患者家族19症例を集積した。

DNA 検体は、これまでNLRP3 変異の報告のあるエクソン3, 4, 6をproof-reading enzyme であるKODを用いたPCR法で増幅後、サブクローニングしサンガー法でシーケンシングを行った。これまでの体細胞モザイクの検討では、約5%の体細胞モザイクが同定されており、5%のモザイクを95%の確率で検出できるクローン数として96を設定した。

（倫理面への配慮）

当研究は、当大学倫理委員会の承認をうけている。海外主要施設は、本研究における遺伝子解析研究の共同施設として登録した。またinformed consent は各海外施設にて取得後、NLRP3 遺伝子解析を当大学にて施行した。

C、研究結果

26症例解析し、18症例（69.3%）にNLRP3 体細胞モザイクを同定した。モザイクの頻度は4.2%から35.8%（平均12.1±7.9%）であった。NLRP3 変異が見つかった症例中、7変異が新規変異（G307S、K355N、M406V、T433I、F566L、E567K、K568N）で、6変異が既報告例（L254F、D303H、G307V、A439P、Y570C、G755R）であった。4変異が独立に2症例ずつに同定された（F566L、E567K、G755R、D303H）（表1）。

続いて、認められた体細胞モザイクがCINCA/NOMID 特異的に見られることを確認するため、健康なCINCA/NOMID 患者家族19症例にNLRP3 体細胞モザイクを認めるか検討した。健康なCINCA/NOMID 患者家族19症例でNLRP3 体細胞モザイクは0症例であった。以上より、NLRP3 体細胞モザイクは、NLRP3 変異陰性CINCA/NOMID 患者に統計学的に有為に多く認められた（18/26 VS 0/19）。

新規に認められたNLRP3 変異と疾患関連性を検討するため、ASC 依存性NF- κ B 活性化能、THP-1 細胞における細胞死誘導能を検討した（図1, 2）。新規に同定された変異はいずれも、ASC 依存性NF-

κB 活性化能・THP-1 細胞における細胞死誘導能を有していた。さらに新規変異体は今回同定された既報告変異体と同等もしくはより活性が強かった。以上の結果

は今回同定された変異はいずれも疾患関連性を有していることを示した。

患者群				コントロール群 (患者家族)		
	シークエンス結果	アミノ酸置換	モザイク頻度		患者との家族関係	シークエンス結果
フランス				フランス		
F1	1298C>T	T433I	5.2%	CF1	F2父	変異なし
F2	907G>C	D303H	4.2%	CF2	F2母	変異なし
F3	1315G>C	A439P	21.9%	CF3	F3父	変異なし
F4	1216A>G	M406V	9.2%	CF4	F3兄弟	変異なし
F5	1698C>A	F566L	11.5%	CF5	F3姉妹	変異なし
F6	変異なし			CF6	F3母	変異なし
				CF7	F5父	変異なし
				CF8	F5母	変異なし
日本				日本		
J1	1709A>G	Y570C	12.2%	CJ1	J1父	変異なし
J2	790C>T	L264F	4.3%	CJ2	J1母	変異なし
J3	919G>A	G307S	10.7%	CJ3	J1姉妹	変異なし
J4	1699G>A	E567K	6.5%	CJ4	J6父	変異なし
J5	907G>C	D303H	11.9%	CJ5	J6母	変異なし
J6	変異なし					
スペイン				スペイン		
S1	920G>T	G307V	9.6%	CS1	S1父	変異なし
S2	907G>C	D303H	19.1%	CS2	S1母	変異なし
S3	変異なし					
S4	変異なし					
アメリカ				アメリカ		
A1	1065A>T	K355N	18.8%	CA1	A2父	変異なし
A2	1698C>A	F566L	14.6%	CA2	A2母	変異なし
A3	1704G>C	K568N	9.4%	CA3	A3父	変異なし
A4	2263G>A	G755R	35.8%	CA4	A3母	変異なし
A5	変異なし					
A6	変異なし					
オランダ				オランダ		
N1	1699G>A	E567K	6.3%			
N2	2263G>A	G755R	6.3%			
N3	変異なし					
N4	変異なし					
計		26		計	19	
モザイク発症率		18 (69%)		モザイク発症率	0 (0%)	

表1 NLRP3 変異陰性 CINCA/NOMID とその健康患者家族の NLRP3 体細胞モザイクの比較

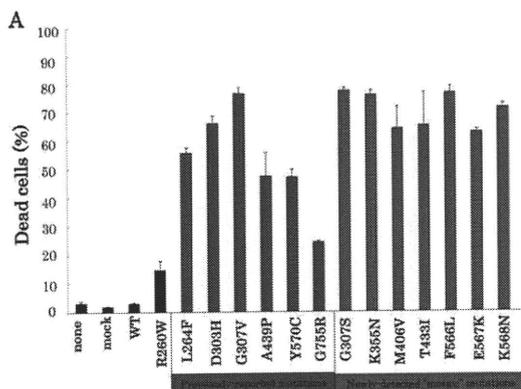


図1 THP-1 細胞における変異 NLRP3 による細胞死誘導
既知報告変異は赤、新規変異は青、陰性コントロール、陽性コントロール (R260W) は黒で示した。

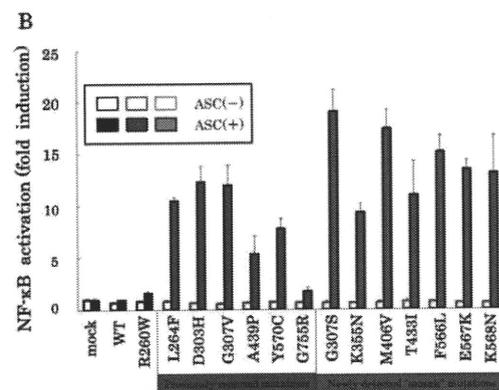


図2 変異 NLRP3 による ASC 依存性 NF-κB 活性化能
既知報告変異は赤、新規変異は青、陰性コントロール、陽性コントロール (R260W) は黒で示した。

D、考察

今回、本邦で認められた NLRP3 変異陰性 CINCA/NOMID 症例における体細胞モザイクを外国及び他人種で検討し且つ症例数を増やすことによりその頻度をより正確に算出するため、海外主要施設と共同研究をおこなった。これまで本邦における解析では CINCA/NOMID 患者単球特異的性質、即ち LPS 刺激による単球細胞死を用いて、NLRP3 体細胞モザイクを検出していた。しかしこの方法の問題点として、新鮮な末梢血がいること、検出のために特殊装置である細胞ソーターが必要な事、技術的に熟練を要することがあった。よって、今回の海外検体としては、より安定に輸送できる DNA 検体を用いて行った。

今回の解析結果では NLRP3 変異陰性 CINCA/NOMID の約 70% に NLRP3 体細胞モザイクを認めたため、CINCA/NOMID 全体の約 28% が NLRP3 体細胞モザイクで発症していると考えられる。また健常な患者家族では 1 例も NLRP3 体細胞モザイクはなく、NLRP3 体細胞モザイクと CINCA/NOMID 発症は強く関連していると結論した。

今回の同定された体細胞モザイク 13 種類中 7 種類が新規変異であり、いずれも既知変異よりより機能的疾患関連性を有していた。これらの変異が通常ヘテロ変異として同定されていない理由として、ヘテロ変異では重症過ぎて出生できないもしくは出生しても生後早期に死亡する可能性を示唆した。

今回の研究で、CINCA/NOMID の 12% はヘテロ変異でもなく、NLRP3 体細胞

モザイクでもなく、真の“NLRP3 変異陰性”CINCA/NOMID となる。しかし今回の検討からでは、NLRP3 変異の見逃しの可能性がのこる。まず第一にエクソン 3, 4, 6 以外の他のエクソンに NLRP3 体細胞モザイクが存在する可能性。続いてエクソン以外の非翻訳領域での変異である。最近、FCAS で NLRP3 プロモーター領域の変異が報告されている。ただし、発現量の変化だけで正常 NLRP3 がいかに疾患を引き起こすかは今後の検討課題である。第 3 に、今回の検出限界として設定した 5% 以下の体細胞モザイクの可能性である。今回の検討でも 5% 未満の症例は 2 例存在し、検出限界を下げる新規解析方法が望まれる。1 つの方法として次世代シーケンサーによる大量遺伝子解析を行い、クローン数を増加させることが可能である。ただし同方法は今回用いたサンガー法よりエラー率が高く、同方法を解析に用いるためにはさらなる検討が必要と考えられた。

E、結論

海外 CINCA/NOMID 主要研究施設 (4 カ国) の国際協力のもと、NLRP3 変異陰性 CINCA/NOMID 症例で体細胞モザイクを検討し、26 症例中 18 症例に体細胞モザイクを同定した。CINCA/NOMID 診断には NLRP3 体細胞モザイクの検討が不可欠であり、CINCA/NOMID の主要原因の 1 つと考えられた。

F、研究危険情報

特になし

G、研究発表

論文発表

Adachi, M., Watanabe, A., Nishiyama, A.,
Oyazato, Y., Kamioka, I., Murase, M., Ishida,
A., Sakai, H., Nishikomori, R., and Heike, T.
Familial cases of periodic fever with
aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical
adenitis syndrome. *J Pediatr* 158, 155-159.
2011

Morishima, T., Watanabe, K.I., Niwa, A.,
Fujino, H., Matsubara, H., Adachi, S.,
Suemori, H., Nakahata, T., and Heike, T.
Neutrophil differentiation from
human-induced pluripotent stem cells. *J Cell
Physiol.* 2010

Nagai, K., Yamamoto, K., Fujiwara, H., An,
J., Ochi, T., Suemori, K., Yasumi, T., Tauchi,
H., Koh, K., Sato, M., *et al.* Subtypes of
familial hemophagocytic lymphohistiocytosis
in Japan based on genetic and functional
analyses of cytotoxic T lymphocytes. *PLoS
One* 5, e14173. 2010

Sakai, H., Ito, S., Nishikomori, R., Takaoka,
Y., Kawai, T., Saito, M., Okafuji, I., Yasumi,
T., Heike, T., and Nakahata, T. A case of
early-onset sarcoidosis with a six-base
deletion in the NOD2 gene. *Rheumatology
(Oxford)* 49, 194-196. 2010

H、知的財産権の出願・登録状況

特になし

家族性地中海熱 *MEFV* exon3 variants の検討

上 松 一 永 (信州大学医学研究科感染防御学)

研究要旨

家族性地中海熱 (FMF) の典型例においては、発熱、腹膜炎、胸膜炎、関節炎 (股関節、膝関節、足関節)、心外膜炎を伴い、38 度以上の発熱が 12 時間から 3 日持続することが特徴的である。典型的な FMF 以外に、incomplete type (不全型、非典型例) があることがわかってきた。診断・治療に難渋することの多い FMF incomplete type の検討を行った。発熱持続期間は比較的長く、随伴症状として激しい腹痛や胸背部痛の合併が少なかった。関節炎 (骨髄炎)、難治性嘔吐、皮疹、筋痛などの TRAPS にみられる症状、PFAPA 様症状、など多彩な随伴症状を呈し、*MEFV* 遺伝子 exon3 の同一アレルに、P369S、R408Q 変異をヘテロ接合体で認めた。また、この約半数で exon2 の E148Q 変異が同じアレルにみられた。コルヒチンは有効だが、増量が必要な場合があった。一部で副腎皮質ホルモン薬とボルタレンが有効であった。

A. 研究目的

家族性地中海熱 (Familial Mediterranean fever: FMF) の典型的な臨床所見を昨年度に報告した。月に 1 回ほどの発熱を繰り返し、発熱期間は 3 日以内で、発熱に伴って激しい腹痛か胸痛を訴える。こうした典型例とは異なる非典型例の存在が明らかになり、集積されてきた。

FMF の診断基準である Tel-Hashomer criteria では、典型例以外に、incomplete (不完全あるいは非典型例) として、38°C 以下の発熱、発作期間が 6 時間から 1 週間、腹部症状がある期間に腹膜炎がないか限局性の症状、関節炎が非典型的な部位に発症、などの臨床症状をあげている。非典型的 FMF 患者は、FMF の責任遺伝子 *FEMV* の exon3 に P369S-R408Q 変異を有しており診断の目安とした。本研究では、集積した非典型例家族性地中海熱の臨床像を把握し、遺伝子診断のための遺伝学的発症原因の検討を目的とした。

B. 研究方法

1. 当大学・教室でフォローアップならびに

各施設から紹介された非典型的 FMF 患者の臨床像、検査所見、遺伝子解析結果、治療効果について論文発表の症例を加え検討した。

2. 臨床症状は、典型例 FMF と、発熱間隔、発熱持続期間、随伴症状を中心に比較検討した。

3. FMF は主に常染色体劣性遺伝形式と考えられるため、P369S-R408Q もう一方のアレルの変異を SNP を含めて検討した。家族解析ならびにアレル特異 PCR により解析した。

4. 正常人は、P369S-R408Q を 5% が有するため、正常人の検討も行った (東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター、川口 鎮司との共同研究)。

(倫理面への配慮)

家族性地中海熱の責任遺伝子 *MEFV* 遺伝子解析には、信州大学医学部の倫理委員会の承諾を得ており、検体の取り扱いなどについては委員会の指針に従っている。

C. 研究結果

1. 臨床像の検討

典型例 FMF の発熱期間は 12 時間から 72

時間であるのに対し、非典型例では、1週間前後が多く、3-5日、2週間、1か月、数時間なども認められた。発作間隔は、典型例と同様に1-2か月に1度だった。随伴症状は、関節炎、骨髄炎が多く、典型例が股関節、膝関節、足関節に多いのに対し、肘関節や手関節などにも認められた。TNF受容体関連周期性症候群にみられるような消化器症状、嘔吐、下痢、腹痛を伴う例もみられた。皮膚症状として、丹毒様皮疹以外に紅斑をみとめる例があった。周期性発熱・アフタ性口内炎・咽頭炎・リンパ節炎症候群（periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis : PFAPA）に認められる咽頭炎/扁桃炎を合併する例もみられた。頭痛の訴えもあった。

2. MEFV遺伝子変異

典型例FMFにおいては、M694I変異を中心としたExon10の変異ならびにExon2のE148Qのヘテロ接合で発症しているが、臨床的に典型例FMFと判断した患者においては、P369S-R408Qは認めなかった。

P369S-R408Q/S503Cが4例/40例で認められ、10%はこのコンパウンドヘテロ接合で発症していることが判明した。P369S-R408Q/wtが34例/40例あり、もう一方のアレルの変異を同定できなかった。約半数例において、E148Q（一部はL110Pを含む）が同一アレルに認められた。

P369S-R408Q/P369S-R408Qは0例で、P369S-R408Q/wtが2例認められた。

3. MEFV SNPの検討

90%例では、原因変異は同定できなかったが、特徴的なSNPが判明した。P369S-R408Q/wt患者では、変異アレル側に、解析した全例が、R501Rとintron8 1759+8 C>Tを有していた。また、比較的多く認められるSNPであるE474E-Q476Q-D510Dが、P369S-R408Qと同一アレルには存在しないことが判明した。

4. 正常人の検討

正常人は、約5%がP369S-R408Q変異を保有していたが、非典型例FMF患者とほぼ同様の結果が得られた。すなわち、P369S-R408Q/wtの34人の解析では、R501Rとintron8 1759+8C>Tが全例、P369S-R408Q変異側に認められた。P369S-R408Q/P369S-R408Qのホモ接合は3人に認められた。3例ともR501Rとintron8 1759+8C>Tはホモ接合であった。P369S/wtは3人に認められた。

D. 考察

本邦の非典型例FMFは、典型例と臨床像がかなり異なり、MEFV遺伝子変異部位の差異による可能性が考えられた。非典型例もコルヒチンが著効しており、早期に診断することが重要と考えられた。早期診断のために遺伝子解析が有用であるが、多くはP369S-R408Q/wtのみしか検出できず、今後の検討課題と思われる。典型例においても、M694I/wtが16%認められ、接合する他の分子の異常も考えられたが、今のところ他分子の遺伝子変異は明らかになっていない。

E. 結論

非典型例家族性地中海熱も多くは、副腎皮質ステロイド薬は無効で、特効薬ともいえるコルヒチンがほぼ全例で著効する。やや増量する傾向があるものの、炎症発作を抑えて患者QOLを向上させるためには、早期診断と早期のコルヒチン治療が不可欠である。非典型例においても苦しい日々の生活を余儀なくした患者がみられるため、的確な診断が望まれる。本研究の推進が今後も重要と思われる。また、早期確定診断のための責任遺伝子解析結果においてパイリン遺伝子変異の疑問点が明らかになり、診断法を確立することが必要と思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 増本純也, 上松一永. 自己炎症疾患. Medical Practice 27; 712-715, 2010.

2. 上松一永, 山崎和子, 増本純也. 小児皮膚疾患 自己炎症性症候群(解説/特集). 小児科 53; 630-633, 2010.

3. 大谷寛, 中西里永子, 山田秀樹, 向山新, 布村眞季, 山崎和子, 上松一永. 周期性の発熱を呈し臨床的に TNF receptor-associated periodic syndrome(TRAPS)と診断した成人女性の 1 例.日本内科学会雑誌 99; 1058-1060, 2010.

4. 上松一永, 山崎和子, 増本純也. 子どもの皮膚疾患の診かた, 小児皮膚疾患 自己炎症性症候群(解説/特集) 小児科 51; 630-633, 2010.

5. Koichi Oshima, Kazuko Yamazaki, Yoichi Nakajima, Akari Kobayashi, Tomochika Kato, Osamu Ohara, Kazunaga Agematsu. A case of Familial Mediterranean fever associated with compound heterozygosity for the pyrin variant L110P-E148Q/M680I in Japan. Modern Rheumatology 20:193-5, 2010.

6. Yamazaki K, Yamazaki T, Taki S, Miyake K, Hayashi T, Ochs HD, Agematsu K. Potentiation of TLR9 responses for human naïve B-cell growth through RP105 signaling. Clin Immunol. 135:125-36, 2010.

2. 学会発表

1. 上松一永: 第 113 回日本小児科学会学術集会. 教育講演. 自己炎症疾患の最近の話題. 盛岡 2010 年 4 月
2. 上松一永: 日本小児科学会北陸地方会
特別講演 家族性地中海熱などの自己炎症疾患の診断と治療. 金沢 2010 年 3 月

G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

重症先天性好中球減少症に対する造血幹細胞移植

唐川修平 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)

溝口洋子 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)

中村和洋 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)

小林正夫 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)

研究要旨

重症先天性好中球減少症 (SCN) は重症細菌感染症を反復する難治性遺伝性疾患であるが、G-CSF 投与により 95%以上の症例で感染予防が可能となった。しかし長期投与により約 20%の症例で MDS/AML への移行がみられ、重症感染症とともに生命予後に影響を与えている。現在のところ MDS/AML 進展前の骨髄移植における前処置、移植時期等について明確な基準は示されていない。今回われわれは治療関連毒性軽減による移植成績の向上を目的に、MDS/AML 進展前の SCN 症例 5 例に fludarabine を用いた中等度骨髄破壊的前処置による骨髄移植を実施したので報告する。G-CSF に反応不良である症例、G-CSF の長期投与が必要な症例、重症感染症を反復する症例では、MDS/AML 進展前に中等度骨髄破壊的前処置による骨髄移植を行うことが有用であると考えられた。適切な移植時期、前処置法の選択については本邦症例を集積し、ガイドラインの作成が必要と思われる。

A. 研究目的

SCN 症例において MDS/AML 移行前にフルダラビンを中心とした骨髄非破壊的前処置 (RIC) による造血幹細胞移植 (SCT) をおこない、その有効性や治療関連毒性を評価する。

B. 研究方法

広島大学病院で 2007 年 8 月から 2010 年 7 月までに造血幹細胞移植を施行した SCN の 5 例を対象とした (Table I)。年齢は 1 歳から 17 歳であり、男児 3 例、女児 2 例であった。原因遺伝子は 4 例で *ELA2* の変異が確認された。1 例は *ELA2*, *HAX1*, *GFI-1*, *G6PC3* を解析したが変異を認め

られなかった。全例 MDS/AML を発症しておらず、G-CSF を使用しているにもかかわらず感染症が繰り返されており移植適応となった。症例 4 は以前 9 ヶ月時に臍帯血移植をおこなったが移植後早期に拒絶となった。

移植源は症例 2、3 では HLA 一致同胞の骨髄を用い、症例 1、4、5 では非血縁ドナーの骨髄を用いた。症例 1、5 は HLA 一致であったが、症例 4 は HLA-A の一座不一致であった (Table II)。

前処置は全例 Fludarabine (Flu) 125 mg/m², Cyclophosphamide (CY) 100-160 mg/kg, Melphalan (L-PAM) 70-90 mg/m², TBI 3 Gy を使用し、非血縁ドナ

Table I : Characteristics of the cases prior to HSCT

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5
Age	1y5m	17y	2y7m	8y	3y
Sex	male	female	male	male	female
Etiology	<i>ELA2</i> G174D	unknown	<i>ELA2</i> C194X	<i>ELA2</i> G185R	<i>ELA2</i> V72M
Pre-transplant status	recurrent pneumonia	skin, perianal abscess	lung abscess	skin abscess pneumonia second SCT	perianal abscess
G-CSF ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$)	5	6-20	5-20	5	5
Duration at G-CSF therapy	13 months	17 years	3 months	8 years	11 months

Table II : Characteristics of HSCT

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5
Donor	MUD	MRD	MRD	MMUD (HLA 7/8)	MUD
Source	BM	BM	BM	BM	BM
NCC($\times 10^8/\text{kg}$)	2.9	3.7	5.1	3.4	1.9
CD34($\times 10^6/\text{kg}$)	2.4	6.6	16	4.2	1.9
Conditioning regimen	Flu 125 CY 100 LPAM 70 TBI 3 ALG 60	Flu 125 CY 160 LPAM 90 TBI 3	Flu 125 CY 120 LPAM 90 TBI 3	Flu 125 CY 125 LPAM 90 TBI 3 ATG 10	Flu 125 CY 140 LPAM 90 TBI 3 ATG 2.5
Engraftment	Complete engraftment	Complete engraftment	Mixed chimerism	Complete engraftment	Graft failure

MRD; matched related donor MUD; matched unrelated donor MMUD; mismatched unrelated donor

一であった症例 1、4、5 に関しては anti-lymphocyte globulin (ALG) 60 mg/kg もしくは anti-thymocyte globulin (ATG) 2.5 or 10 mg/kg を追加した。症例

5 に関しては移植後の感染症を危惧し ATG を減量した。GVHD 予防には全例 Tacrolimus (FK) + short Methotrexate (MTX) を使用した。

C. 結果

症例 1、2、4 は 100% donor type の生着であった (Table II)。症例 3 は移植後 6 か月より mixed chimerism となり Donor lymphocyte infusion (DLI) を数回おこなったが、現在 donor type は 30-50 % である。症例 5 は、移植早期よりドナー骨髄の生着不全が認められ、DLI により一過性の反応がみられたがその後急速に拒絶された。生着不全がおこった症例 5 以外は感染症の臨床症状の改善が認められた。

GVHD は症例 1 の顔面皮膚に軽度の発疹を認めたのみでその他の症例では認めなかった。症例 5 に関しては DLI 後に皮膚の GVHD (stage II) が出現したが一過性であった。全例重篤な移植関連合併症や移植後ウイルス感染症をおこしておらず、現時点であきらかな後遺症も併発していない。症例 5 は今後 second SCT を予定している。

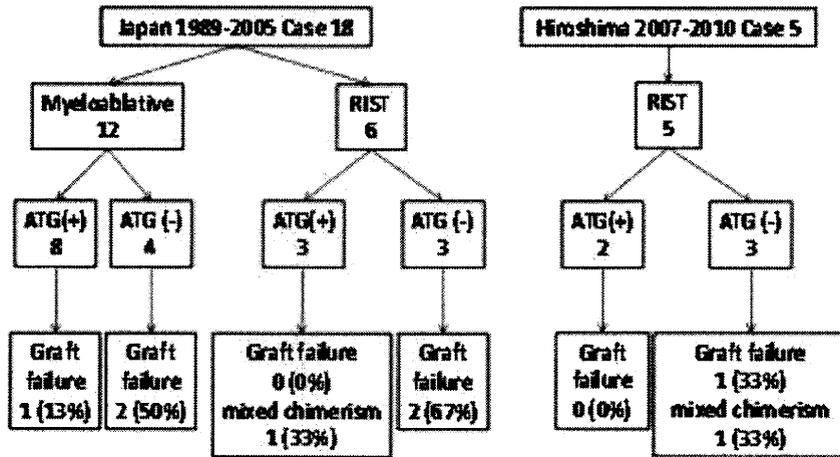
D. 考察

MDS/AML に進展した SCN 症例では造血幹細胞移植が唯一の根治療法となる。SCN 症例の国際的な登録組織である Severe Congenital Neutropenia International Registry (SCNIR) の解析では、1994 年から 2000 年の期間に登録された 348 例の SCN 症例のうち 35 例が MDS/AML へ進展している。このうち 24 例に造血幹細胞移植が実施されているが、17 例は治療関連毒性などのために死亡している¹⁾。遺伝性造血器疾患から進展した MDS/AML は予後不良であることに加え、化学療法、移植前処置による治療関連毒性が予後不良の原因と推定される²⁾。SCN 症例の予

後を改善するため、最近では G-CSF への反応不良例では MDS/AML に進展する前に造血幹細胞移植が試みられている。

SCNIR から報告された MDS/AML 進展前に造血幹細胞移植を実施された 11 例の検討では 10 例に骨髄破壊的前処置による移植が実施され、2 例が死亡し、3 例が重症の治療関連毒性を認めている³⁾。フランスにおける 5 例の解析では、全例に骨髄破壊的前処置が用いられ 2 例が死亡し、1 例に重篤な神経障害の合併が認められている⁴⁾。以上のように、MDS/AML 進展前の造血幹細胞移植により予後の改善は認められているが、骨髄破壊的前処置による治療関連毒性が課題となっている。最近、他の先天性免疫不全疾患において RIC による造血幹細胞移植が試みられるようになり、治療関連毒性の軽減、晩期障害の軽減が期待されている。しかし SCN 症例では反復感染に伴うリンパ球機能の活性化のため拒絶の可能性が高い。1989 年から 2005 年の日本における 18 例の SCN 移植症例の解析では、12 例に骨髄破壊的前処置が、6 例に RIC がおこなわれた⁵⁾。死亡は 2 例であり重篤な移植関連合併症も 2 例と少なかったが、5 例に生着不全が認められた。RIC の症例が比較的増えたことが一因と考えられるが、興味深いことにこの報告では ATG を前処置にくわえることで良好な生着をもたらしている可能性があると考えられている。今回われわれがおこなった SCN の移植 5 例においても、ATG を使用しなかった同胞ドナーの 2 例のうち 1 例が mixed chimerism となり、ATG を使用した非血縁ドナー 3 例のうち、少量の ATG が使用された症例 5 で生着不

Figure 1: これまでの日本での成績と当院での比較



全が認められた(Figure 1)。症例数が少ないため詳細は言及できないが、十分なATG投与によるリンパ球抑制がSCNの移植には必要である可能性が考えられた。また当院で移植がおこなわれた5例では重篤な移植関連合併症は出現しなかった。しかし移植後観察期間が短いため今後もひきつづき妊孕性を含めた長期合併症については定期的なフォロー、評価が必要である。今後、本邦における移植症例を集積し、本症における造血幹細胞移植の移植時期や前処置に関するガイドライン作成を予定している。

E. 結論

MDS/AML 進展前にフルダラビンを用いた中等度骨髄破壊の前処置による造血幹細胞移植を行い、比較的 safely に実施でき、5例中3例で完全キメラの誘導、4例で臨床症状の改善が認められた。今後、本邦における移植症例を集積し、本症に

おける造血幹細胞移植の移植時期や前処置に関するガイドライン作成が必要と思われる。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 学会発表

Ohno N, Kajiume T, Hayakawa S, Kobayashi Y, Ytsunomiya A, Kobayashi M: Umbilical cord blood-derived stem cells cultured under low oxygen tension enhance the migration and homing efficacy through the increased expression of CXCR4.

American Society of Hematology, 52nd Annual Meeting, Orlando, FL, 2010.

Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Sakai H, Nishikomori R, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Heike T,

Nakahata T, Takaiharu Y, Kobayashi M: A Novel mutation K673R in STAT1 impaired the STAT1 signal transduction in a dominant-negative manner identified in a Japanese boy. American Society of Hematology, 52nd Annual Meeting, Orlando, FL, 2010.

Karakawa S, Okada S, Tsumura M, Yasunaga S, Ohtsubo M, Kawai T, Nishikomori R, Takihara Y, Kobayashi M: Decreased expression in NF-kB essential modulator due to a novel splice-site mutation causes ectodermal dysplasia with immunodeficiency. American Society of Hematology, 52nd Annual Meeting, Orlando, FL, 2010.

Tsumura M, Okada S, Mizoguchi Y, Sakai H, Nishikomori R, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Heike T, Nakahata T, Takihara Y, Casanova J, Kobayashi M: A novel mutation K673R in STAT1 impaired the STAT1 signal transduction in a dominant-negative manner identified in a Japanese boy with MSMD. 14th International Congress of Immunology, Kansai (Kobe), 2010 (August 22-27).

2. 論文発表

Hoshina T, Takada H, Sasaki-Mihara Y, Kusuhara K, Ohshima K, Okada S, Kobayashi M, Ohara O, Hara T: Clinical and host genetic characteristics of Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases in Japan. Journal of Clinical Immunology, 2010. (in press)

Ohno Y, Yasunaga S, Ohtsubo M, Ori S, Tsumura M, Okada S, Ohta T, Kiyoshi Ohtani, Kobayashi M, Takihara Y: Hoxb4 transduction down-regulates Geminin protein, providing hematopoietic stem and progenitor cells with proliferation potential. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010. (in press)

Shirao K, Okada S, Tajima G, Tsumura M, Hara K, Yasunaga S, Ohtsubo M, Hata I, Sakura N, Shigematsu Y, Takihara Y, Kobayashi M: Molecular pathogenesis of a novel mutation, G108D, in short-chain acyl-CoA dehydrogenase identified in subjects with short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Human Genetics 127:619-28, 2010.

Kihara H, Ohno N, Karakawa W, Mizoguchi Y, Fukuhara R, Hayashidani M, Nomura S, Nakamura K, Kobayashi M: Significance of immature platelet fraction and CD41-positive cells at birth in early onset neonatal thrombocytopenia. International Journal of Hematology 91: 245-251, 2010.

溝口洋子, 岡田 賢, 小林正夫: 血液疾患における病態解析研究の進歩: 先天性好中球減少症発症機構解明の進展 血液・腫瘍科 60(2): 118-124, 2010.

溝口洋子, 小林正夫: 好中球減少症 小児科 51: 985-994, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

参考文献

1. Dale DC, Cottle TE, Fier CJ, et al. Severe chronic neutropenia: treatment and follow-up of patients in the severe chronic neutropenia international registry. *Am J Hematol.* 2003;72:82-93
2. Rosenberg PS, Alter BP, Bolyard AA, et al. The incidence of leukemia and mortality from sepsis in patients with severe congenital neutropenia receiving long-term G-CSF therapy. *Blood.* 2006; 107: 4628-4635
3. Zeider C, Welte K, Barak Y, et al. Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia without evidence of leukemic transformation. *Blood.* 2000; 95: 1195-1198
4. Ferry C, Ouachee M, Leblanc T, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in severe congenital neutropenia: experience of the French SCN register. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:45-50
5. Oshima K, Hanada R, Kobayashi R, et al. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia: An analysis of 18 Japanese cases. *Pediatr Transplantation.* 2010; 14: 657 - 663

原発性免疫不全症に対する幹細胞移植の検討

横 田 俊 平 (横浜市立大学医学部小児科)

研究要旨

我々は、2000年から2010年までの7年間に原発性免疫不全(男7名、女3名、慢性肉芽腫症6例、Chediak Higashi 症候群1例、高IgE症候群2例)に対して造血幹細胞移植を9例施行した。移植時年齢は1-31歳(中央値13歳)、移植後観察期間は6ヶ月-7年(中央値4年)であった。ドナーは血縁4例、非血縁3例で、HLAは完全一致が5例、強度を弱めた前処置例が6例であった。全例に生着を確認し拒絶例はなかった。移植後、重症感染症の頻度は全例で減少した。HIESでは移植前にはアスペルギルス肺炎に対する肺切除を繰り返していたが、移植後、肺切除が必要となる重症肺炎はなかった。

原発性免疫不全症に対して免疫機能の改善が期待できる造血幹細胞移植は有効な治療法の一つと考えられる。一方、HLA一致ドナーの問題や長期予後、移植方法など今後の検討も必要と思われる。

A. 研究目的

原発性免疫不全症は、感染症やそれに伴う組織障害などによりADLのみならず生命予後不良な疾患も多い。近年、多くの原発性免疫不全症で原因遺伝子が発見されているが、遺伝子治療による免疫機能の回復はまた実験的医療の域を越えていない。一方、白血球の機能異常が原因となる原発性免疫不全症では、造血幹細胞移植による正常遺伝子の導入をすることにより遺伝子治療と同等の免疫機能の改善が期待される。

我々は原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植を行った症例について、移植治療の経過ならびに臨床上的問題・課題について検討することによって原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植の標準的治療法を確立する上で必要な要素について研究を行った。

B. 研究方法

我々がこれまで原発性免疫不全症に対して行ってきた造血幹細胞移植症例について、各原発性免疫不全症ごとに臨床症状・検査所見ならびに移植に関連した検査・治療(治療薬・放射線照射など)・経過について検討を行い、造血幹細胞移植における治療予後に関わる要因の抽出を行った。

C. 研究成果

2000年から2010年までの10年間に原発性免疫不全に対して造血幹細胞移植を9例(男7名、女3名)に施行した。原発性免疫不全症の内訳は、慢性肉芽腫症7例、

Chediak Higashi 症候群1例、高IgE症候群2例であり、移植時年齢は1~31歳(中央値13歳)、移植後観察期間は6ヶ月-10年(中央値4年)であった。ドナーは血縁4例、非血縁3例で、HLAは完全一致が5例、強度を弱めた前処置例が6例であった。全例に生着を確認し拒絶例はなかった。移植後、重症感染症の頻度は全例で減少した。

慢性肉芽腫症に対する造血幹細胞移植(7症例)のまとめ

	CGD(n=7)
type	Gp91phox- ; 5 p22phox- ; 2
age at diagnosis	10.5m(1m-3y)
age at transplant	16y(1y-31y)
sex	Male:5 female:2
pre-transplant complication	pulmonary aspergillosis:3 CGD colitis:2 liver abscess:2 Mycellitis+Renal failure+vesicolectal failure:1 Protein-losing enteropathy:1 Mesenteric lymphadenitis:1
donor source	relatedBM:4 unrelatedBM:3
HLA match	3/6match:1 6/6match:6
conditioning	reduced intensity (RIST):6 myeloablative:1
GVHD prophylaxis	CyA+MMF:1 CyA+MTX:2 FK+MMF:2 FK+MTX:2
acute GVHD	CGD(n=7) GradeI:1 GradeII:1 GradeIII:0 GradeIV:1
chronic GVHD (extensive)	2
months after transplantation	31.5m(83d-64m)
chimerism (Tcell%donor)	100%(60-100)
chimerism (Granulocyte;%)	100%(10-100)
NBT(% PMAstimulated)	77%(10-90)
post-transplant infection	CMV,VZV infection:1 MRSA pneumonia+Aspergillosis:1