

299-308.

## 2. 学会発表

Nagai K, **Yamamoto K**, **Ishii E**, **Yasukawa M**, et al (2010) Real incidence and variation of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes. 26<sup>th</sup> Annual Meeting of Histiocyte Society, October, Boston, USA

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

7. 特許所得  
なし
8. 実用新案登録  
なし
9. その他  
なし

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

X 連鎖リンパ増殖症候群の分子遺伝学的解析に関する研究

研究分担者 金兼 弘和 富山大学附属病院講師

研究要旨

X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) は致死性的伝染性単核症あるいは EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH)、異常ガンマグロブリン血症、悪性リンパ腫を 3 徴とする稀な先天性免疫不全症であり、1998 年にその責任遺伝子 *SH2D1A/SAP* が同定され、その病態が明らかになってきた。しかし臨床的に XLP と診断された患者の約 20% では原因が不明であったが、2006 年に第二の責任遺伝子として *XIAP/BIRC4* が同定された。昨年度本邦初の XLP タイプ 2 (XIAP 欠損症) を同定したが、その後 3 家系 5 例の XLP タイプ 2 (XIAP 欠損症) を同定したので、それらの臨床的・遺伝学的特徴について報告する。

A. 研究目的

X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) は致死性的伝染性単核症あるいは EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症 (EBV-HLH)、異常ガンマグロブリン血症、悪性リンパ腫を 3 徴とする稀な先天性免疫不全症であるが、多彩な臨床像を呈するため、家族歴がない場合には臨床診断が困難であった。1998 年に 3 つのグループからその責任遺伝子として *SH2D1A/SAP* が同定され、遺伝子診断が可能となった。多くの孤発例も診断されるようになり、わが国においても少なからず XLP が存在することも明らかになってきた。しかし約 20% の XLP では家族歴を有するにも関わらず、*SH2D1A/SAP* 変異が存在しない。2006 年に Rgaud らは第二の責任遺伝子として *XIAP/BIRC4* を同定した。Marsh らは 6 家系の XLP タイプ 2 (XIAP 欠損症) を報告するとともに、モノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリーに

よる XIAP 欠損症の診断法を報告した。昨年度、本邦初の XIAP 欠損症を報告したが、今年度はさらに 3 家系 5 例の XIAP 欠損症を同定したので、それらの臨床的・遺伝学的特徴を明らかとすることを本研究の目的とする。

B. 研究方法

1. 対象

臨床的に XLP が疑われた患者から文書による同意を得て、末梢血 5~10ml を採取し、富山大学医学部小児科学教室まで宅急便等にて送ってもらった。

(倫理面への配慮)

本研究はヘルシンキ宣言に則り、富山大学倫理審査委員会の承認を得ている。

2. フローサイトメトリー

XIAP 蛋白の発現は末梢血単核球を固定後、細胞膜透過性を高め、市販の抗 XIAP モノクローナル抗体と反応させ

た後に、FITC 標識二次抗体と反応させ、リンパ球内における XIAP 蛋白の発現をフローサイトメーターにて解析した。Natural killer T (NKT)細胞は抗 CD3 抗体、抗 V $\alpha$  24 抗体、抗 V $\beta$  11 抗体による三重染色にて CD3 陽性細胞における V $\alpha$  24 かつ V $\beta$  11 陽性細胞を NKT 細胞として測定した。

### 3. 遺伝子解析

Buffy coat よりゲノム DNA を抽出し、*XIAP/BIRC4* 遺伝子の各エクソンを PCR にて増幅し、ダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定した。

### 4. 細胞障害性 T 細胞活性

同意が得られた患者の末梢血からアロ抗原特異的細胞障害性リンパ球 (CTL) を樹立して、<sup>51</sup>Cr リリース法にて CTL 活性を測定した。

## C. 研究結果

今年度新たに 3 家系 5 例の XIAP 欠損症を同定した。

6 例のうち 3 例は HLH を繰り返しており、発熱、脾腫、肝炎、血球減少、EBV 感染、低ガンマグロブリン血症が症状として認められた。1 例は腸炎で死亡していたが、悪性リンパ腫を発症した患者はいなかった。1 例は同種臍帯血移植が行われたが、合併症のため死亡した。

患者 4 を除いてフローサイトメトリーにて XIAP 蛋白の発現低下が認められ、すべての家系で新規の *XIAP/BIRC4* 遺伝子変異が同定された (図 1)

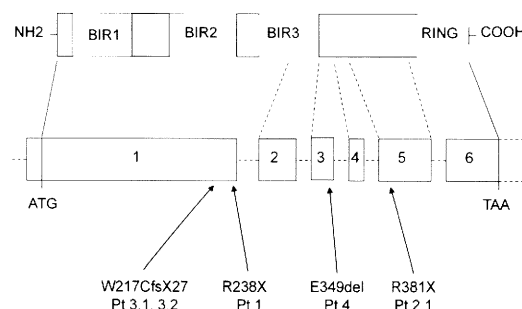


図 1 わが国の XIAP 欠損症における *XIAP/BIRC4* 遺伝子変異

またアロ抗原特異的 CTL 活性は正常対照と同程度であった。

## D. 考察

XIAP 欠損症では XLP の 3 徴のひとつである悪性リンパ腫の発症がないとされているが、本研究でも悪性リンパ腫の発症はなかった。また XIAP 欠損症では HLH を反復することが特徴とされるが、本研究でも 3 例が HLH を反復していた。脾腫も XIAP 欠損症に特徴的とされるが、本研究では 2 例でしか認められなかった。また XIAP 欠損症では少なからず出血性腸炎が認められるが、本研究でも 1 例で認められた。フローサイトメトリーによる XIAP 蛋白の発現は一部正常なものもあり、フローサイトメトリーはスクリーニングとしては有用であるが、遺伝子解析による確認が必須と思われる。

また NKT 細胞数は正常に比べて低下しているという報告と、正常と有意差がないという報告があるが、本研究では XIAP 欠損症では有意に NKT 細胞数は減少していた。またアロ抗原特異的 CTL 活性は家族性血球貪食症候群 (FHL) では正常に比べて活

性の低下が認められるが、XIAP 欠損症では正常であり、FHL とは異なる細胞障害活性によるものと推定される。

#### E. 結論

XIAP 欠損症はわが国にも少なからず存在し、その臨床的特徴は欧米の報告例とよく似ていた。またフローサイトメトリーによる NKT 細胞数の測定と XIAP 蛋白の発現はスクリーニング法としては有用であると思われる。FHL とは異なる細胞障害活性のメカニズムによって HLH を発症していると考えられ、今後のさらなる研究が必要と思われる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Zhao M, Kanegane H, et al. A novel XIAP mutation in a Japanese boy with recurrent pancytopenia and splenomegaly. *Haematologica* 95:688-9, 2010.

Zhao M, Kanegane H, et al. Early and rapid detection of X-linked lymphoproliferative syndrome with SH2D1A mutations by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 80:8-13, 2011.

Booth C, Kanegane H, et al. X-linked

lymphoproliferative disease due to SAP/SH2D1A deficiency: a multicenter study on the manifestations, management, and outcome of the disease. *Blood* 117:53-62, 2011.

Pachlopnik Schmid J, Kanegane H, et al. Clinical similarities and differences of patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (XLP-1/SAP-deficiency) versus type 2 (XLP-2/XIAP-deficiency). *Blood* 117:1522-9, 2011.

##### 2. 学会発表

Kanegane H. Flow cytometric diagnosis of XLP1 and 2. XLP Symposium 2010. 2010, 2, London, United Kingdom.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

### Ⅲ. 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表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石井榮一	Langerhans 細胞組織球症		今日の診断指針6版	医学書院		2010	1874-1876

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
石井榮一	Epstein-Barr ウイルス (EBV) と血球貪食症候群	Herpes Management	15	8	2011
永井功造、石井榮一	ウイルス関連血球貪食症候群	小児救急ガイドライン		印刷中	2011
石井榮一、永井功造	家族性血球貪食症候群(FHL)の病態、診断、治療	感染炎症免疫	40	82-86	2010
石井榮一	EB ウイルスと血球貪食症候群	第17回ヘルペス感染症フォーラム (JHIF) 記録集		3-7	2010

