

たが、こうした例でも CD4 陽性細胞は CD45RO 陽性に偏倚していた。

NKT 細胞の割合を検討すると、TREC または sjKREC 低下群で低値であることが明らかになった。

メモリーB 細胞を各群で比較すると、TREC 陰性群ではメモリーB 細胞が全例で低下していた。メモリーB 細胞の増加、正常例は TREC、sjKREC 正常群で認めた。

3)臨床像との相関

次に各群の臨床像について検討した。

TREC 陽性、sjKREC 群正常群は 19 例あった。この群では、小児と成人の 2 峰性の集団を認め、各群の人数は 11 人、8 人で平均年齢は 7.4 歳、26.4 歳であった。自己免疫疾患やリンパ組織の増大といった合併症を示した割合はそれぞれ 1 人、3 人と少数であった。

この群で、TACI の複合ヘテロを示した 1 家系 2 症例を見いだした。難治性中耳炎、難治性下痢既往、低 γ グロブリン血症を主訴に紹介のあった 2 歳男児で、その弟にも低 γ グロブリン血症を認めた。TACI のミスセンス変異、Ins.変異のコンパウンドヘテロを認め、同胞でも同様の変異を認めた。父母は、症状、 γ グロブリン値異常を認めなかったが、父では ins.変異を、母ではミスセンス変異を認めた。

また、TREC 陽性、sjKREC 陽性群の中に NK 欠損症例を 2 例認めた。NK 低下症例 2 例のうち、1 例では進行性の CD4/8 の低下があり全身にカフェオレ斑あり、1 例では $\gamma\delta$ T と Treg の低下を認めた。

次に、sjKREC 低下例 3 例を示す。いずれの症例も B 細胞減少に加え、CD4/8 低下、

CD4 5RO+/CD4 +上昇がみられ、1 例で甲状腺癌の合併が認められた。

次に TREC 低下例 5 例を示す。5 例中 4 例でリンパ球減少を認め、いずれの症例も入院を要する肺炎の既往を認めた。また 3/5 例でリンパ組織腫脹を合併し、1 例で HPS を、1 例では悪性疾患の合併例を認めた。全例で CD4/CD8 の低下を認めた。

最後に TREC、sjKREC いずれも低下を示した 4 例を示す。4 症例のうち、1 症例は生後早期からの 10 回以上の反復性肺炎を認め、また他 2 例は EBV 持続感染、1 例は麻疹、帯状疱疹反復感染と日和見感染を示唆する経過を認めた。

1/4 症例で自己免疫疾患の合併を、1/4 症例でリンパ組織の腫脹を、1 症例で悪性リンパ腫を合併し、1 症例はカリニ肺炎で死亡した。

この群に 1 例 XIAP の変異を認めた。生後 2 ヶ月から 10 回以上の肺炎を繰り返した例で、6 歳時に低 γ グロブリン血症 (IgG/IgA/IgM : 400/<6.7/264mg/dl) を認め診断にいたった。グロブリン補充開始後は入院を要する肺炎の罹患は認めなくなった。B 細胞欠損 (CD19 : 0.51%/Lymph)、NKT 細胞欠損 (NKT : 0%/CD3) を認め、XIAP の変異を確認した。

4)近親婚患者での遺伝子解析

TREC,KREC 正常群の一例が近親婚家系であったため、SNPchip を用いた homozygosity mapping による候補遺伝子領域解析を行い、該当する領域内遺伝子の exon 部分(周辺 intron を含み、5,447,647 bp=5.45Mbp) を濃縮する遺伝子チップを作成し、次世代シーケンサー(Roche454)にて

シーケンスを行った。結果については、現在解析中である。

D. 考察

以上 CVID が TREC, sjKREC で 4 群に分類されることを示した。

TREC, sjKREC 正常群で TAC1 変異 2 例を見出した。

sjKREC 低下群では全例で CD4/8 の低下、CD45RO の上昇を認め、1 例で甲状腺癌の合併があった。

TREC 低下群では、リンパ球数の低下を 4/5 例、リンパ組織の腫脹を 3/5 例で認め、1 例で HPS、1 例で子宮頸癌を認めた。

TREC, sjKREC 低下群で XIAP 変異を見いだした。リンパ球数の低下を 3/4 例で認め、日和見感染を 3 例で、悪性リンパ腫を 1 例で認めた。

CVID で原因遺伝子が明らかになる例はまだ少数である。我々の研究室では、TREC, sjKREC 正常群ではいわゆる CVID の原因遺伝子検索を行い、sjKREC 低下群では、VDJ 再構成異常など B 欠損を来す遺伝子変異を検索する。TREC 低下群では SCID 遺伝子の軽症例を念頭に置き、検索を進めている。近親婚患者については、今回 1 例で行ったような戦略で、かずさ DNA 研究所小原收先生と共同研究により、解析を行っている。

E. 結論

国内 32 例のいわゆる”CVID”患者について、TREC, sjKREC を用いて、4 群に分類し、FACS 解析との相関、臨床像との関係について検討した。2 例 (37.5%) が TREC または sjKREC が低値を示しており、より重篤

であった。TREC、sjKREC を用いた CVID の亜分類は、病態の理解につながり、より効率の良い候補遺伝子探索に利用可能であると考えられた。実際に TAC1 変異例を 2 例、XIAP の変異例 1 例を同定した。TREC 低下または sjKREC 低下例は、予後不良と考えられ、治療、予防の選択に有用であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Zhao M, Kanegane H, Kobayashi C, Nakazawa Y, Ishii E, Kasai M, Terui K, Gochi Y, **Imai K**, Kiyasu J, Nonoyama S, Miyawaki T. Early and rapid detection of X-linked lymphoproliferative syndrome with SH2D1A mutations by flow cytometry, *Cytometry Part B, Clinical Cytometry*. 80 (1):8-13, 2011.
2. Hashii Y, Yoshida H, Kuroda S, Kusuki S, Sato E, Tokimasa S, Ohta H, Matsubara Y, Kinoshita S, Nakagawa N, **Imai K**, Nonoyama S, Oshima K, Ohara O, Ozono K. Hemophagocytosis after bone marrow transplantation for JAK3-deficient severe combined immunodeficiency, *Pediatric Transplantation*. 14(8):E105-9, 2010.
3. Aghamohammadi A, **Imai K**, Moazzami K, Abolhassani H, Tabatabaeiyan M, Parvaneh N, Nasiri Kalmarzi R, Nakagawa N, Oshima K, Ohara O, Nonoyama S, Rezaei N, Ataxia-telangiectasia in a patient presenting with hyper-immunoglobulin M syndrome,

Journal of Investigational Allergology & Clinical Immunology. 20(5):442-5, 2010.

4. Tsuge I, Kondo Y, Nakajima Y, Nakagawa N, **Imai K**, Nonoyama S, Oshima K, Ohara O, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Urisu A. Hyper IgM syndrome and complement C1q deficiency in an individual with systemic

lupus erythematosus-like disease. *Clinical & Experimental Rheumatology*. 28(4):558-60, 2010.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

健常人ならびに分類不能型免疫不全症患者のリンパ球亜群
における Fc μ R レセプターの発現に関する研究

研究分担者 金兼 弘和 富山大学附属病院小児科 講師
研究協力者 宮脇 利男 富山大学附属病院小児科 教授

研究要旨：

これまで古典的 Fc レセプターのひとつとして Fc μ R の存在が考えられていたが、分子生物学的には明らかではなかった。最近アラバマ大学の Kubagawa らによって Fc μ R の cDNA が同定された。彼らから Fc μ R に対するモノクローナル抗体の供与を受け、臍帯血ならびに成人末梢血のリンパ球亜群における Fc μ R の発現をフローサイトメトリーにて調べた。成人ナイーブ B 細胞は overnight で Fc μ R の発現が増強したが、臍帯血 B 細胞では変化が認められず、また臍帯血制御性 T (Treg) 細胞は overnight で Fc μ R の発現が増強したが、成人 Treg 細胞では変化が認められなかった。ナイーブ B 細胞ならびに Treg 細胞は臍帯血と成人末梢血で Fc μ R の発現様式が異なり、機能的に異なる可能性を示唆している。

A. 研究目的

古典的 Fc レセプター (FcRs) として Fc γ RI/CD61、Fc γ RII/CD32、Fc γ RIII/CD16、Fc ϵ RI、Fc α R/CD89 に加えて Fc μ R の存在が考えられていたが、分子生物学的にその存在は明らかではなかった。アラバマ大学の Kubagawa らは CLL B 細胞ならびに PMA で活性化した 697 プレ B 細胞株から得られた cDNA をレトロウイルス発現ベクターに挿入し、マウス T 細胞株 BW5147 に発現させて IgM と結合する cDNA を得た。この Fc μ R cDNA はすでに同定されていたヒト Fas アポトーシス抑制分子 3 (FAIM3/TOSO) と相同であった。また FCMR はマウスにおいてもヒトにおいても 1 番染色体上で PIGR ならびに FCAMR とクラスターを形成していた。今回の研究では、臍帯血ならびに成人末梢血のリンパ球亜群における Fc μ R の発現を調べることが目的とした。
(倫理面への配慮)

検体採取にあたっては文書による同意を得た後に採取した。

B. 研究方法

臍帯血ならびに健常な成人末梢血から単核球を分離し、B 細胞、ナイーブおよびメモリー CD4 ならびに CD8T 細胞、NK 細胞、制御性 T (Treg) 細胞における Fc μ R の発現を Fc μ R に対するモノクローナル抗体 (Kubagawa 博士から供与) を用いてフローサイトメトリーにて解析した。また overnight で培養後の Fc μ R の発現の変化についても同様に解析した。

(倫理面への配慮)

本研究では、ヒト検体を用いて解析を行うものであり、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を遵守して、患者個人情報の保護について十分

な配慮を行った。

なお本研究は、富山大学医学部倫理審査委員会による承認を得て行った。

C. 研究結果

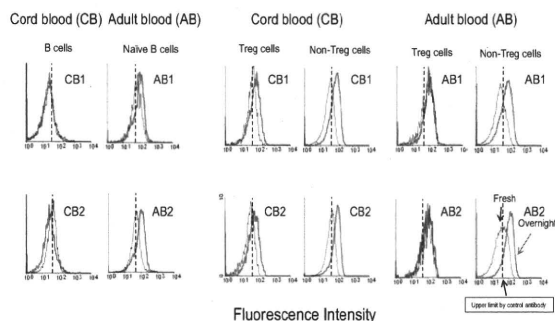
臍帯血 B 細胞における FcμR の発現は成人ナイーブならびにメモリー B 細胞に比べて発現が弱く、また overnight で培養後、成人 B 細胞は FcμR の発現増強が認められたが、臍帯血 B 細胞では発現増強が認められなかった。

臍帯血 CD4+T 細胞、成人ナイーブならびにメモリー CD4+T 細胞における FcμR の発現はほとんど差がなく、また overnight で培養後における FcμR の発現増強は同程度であった。CD8+T 細胞においても CD4+T 細胞と同様の結果であった。

NK 細胞においては臍帯血ならびに成人末梢血における FcμR の発現は同程度に弱く、overnight で培養後も発現増強はほとんど認められなかった。

臍帯血ならびに成人末梢血の Treg 細胞ならびに Non-Treg 細胞における FcμR の発現は同程度であったが、overnight で培養後、臍帯血 Treg 細胞は FcμR の発現増強が認められるが、成人末梢血 Treg 細胞ではその増強がほとんど認められなかった。

臍帯血ならびに成人末梢血 B 細胞由来の B 細胞ならびに Treg 細胞における FcμR の発現について下図に示す。



D. 考察

ナイーブ B 細胞ならびに Treg 細胞は表面マーカーで見ると同様であるが、臍帯血と成人末梢血において FcμR の発現様式が異なり、機能的に異なる可能性を示唆している。

E. 結論

今回は臍帯血と成人末梢血における FcμR の発現についての検討であったが、今後は各年齢群の小児のリンパ球亜群における FcμR の発現について検討する予定である。また分類不能型免疫不全症患者のリンパ球亜群（特に B 細胞）における FcμR の発現についても検討する予定である。

F. 研究発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

CVID における自己免疫疾患病態に関する研究及び CVID 患者会設立支援、
CVID 情報サイトの開設

研究分担者 松本 功 筑波大学人間総合科学研究科臨床免疫 准教授

研究要旨：

分類不能型免疫不全症（Common variable immunodeficiency:CVID）は、2歳以上（多くは10代以降）に発症する低ガンマグロブリン（2クラス以上）血症で、同種血球凝集素、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。CVID患者の実態を調査し、現在不均一な疾患である CVID の発症機序からの亜群特定を試み、診断基準や新たな治療法の開発を目指す。CVID は、感染症とともに、自己免疫疾患（特発性血小板減少性紫斑病、自己免疫性溶血性貧血、他）や腫瘍性疾患を合併することが多く、それらの病態を探索していく。

また CVID には成人例が多く、現在存在する免疫不全症患者会であるつばさの会と連携する形で、成人 CVID の患者会の設立の希望があり、その設立に助力して、会が結成された。Web サイトについては、基本データを収集し、開設の準備が整った。

A. 研究目的

CVID における自己免疫疾患病態（自己免疫疾患の解析）、特に関節炎、自己抗体の関与を検討する。

また CVID の情報発信に向けて、患者会設立支援及び Web サイトの開設を目指す。

B. 研究方法

1 次アンケートにて自己免疫症状を持つ患者群を抽出した（下記にアンケート送付先を記載）

日本血液学会	487 施設
日本感染症学会	227 施設
日本リウマチ学会	458 施設

合計 1159 施設(重複削除後)

2 次アンケートにて合併症について：脾腫：エコー・触診、消化器症状、関節炎、感染症（詳細）、合併症と感染症の関連や検査データについて：ツ反、ワクチン接種歴と抗体価、血液型（表及び裏試験）、自己抗体（抗核抗体、RF、その他）、リンパ球サブセット、HLA を確認し、疾患亜群の症状

や免疫学的データと連動し、今後の方針の決定を試みた。

情報発信については、地区の CVID 患者と連絡をとり、成人 CVID 患者会の設立にむけ会合をもった。Web サイトについては、開設の準備にむけて情報を収集した。上記は研究代表者との連携の元で実施した。

C. 研究結果

・1 次アンケートにて 410 施設より回答、71 例登録。

・2 次アンケートにて 43 施設中 38 施設から回答。71 名中 63 名の二次情報。基礎データとして 199 名の登録。

自己免疫疾患は全体で 19%、40 歳以上では 36.7%に及んだ。

このうち初発症状で関節炎 5 例であった。総計で関節リウマチ 5 例、関節炎 8 例に認めた。

患者会については原発性免疫不全症患者会であるつばさの会に加えて、地域においてすずらんの会が立ち上がり、成人 CVID

の核となるような体制が整った。また Web サイトについては情報の集約を行い、まず免疫不全症サイトへの CVID についての情報提供を行った。

D. 考察 E. 結論

CVID における自己免疫症状の詳細な報告経過はなく、疾患亜群の症状や免疫学的データと連動し、今後の方針を決定していく。CVID 症例も現在の年齢は 20-40 代に多くみられ、内科医とのリンクが必要。ホームページ等での情報発信が望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Akashi N, **Matsumoto I**, Tanaka Y, Inoue A, Yamamoto K, Tanaka Y, Umeda N, Hayashi T, Goto D, Ito S, Sekiguchi K, Sumida T. Comparative suppressive effect in models of autoimmune arthritis by tyrosine kinase inhibitors imatinib and nilotinib. *Mod. Rheumatol*(in press)
2. Hikami K, Kawasaki A, Ito I, Koga M, Ito S, Hayashi T, **Matsumoto I**, Tsutsumi A, Kusaoi M, Takasaki Y, Hashimoto H, Arinami T, Sumida T, Tsuchiya N. Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPII with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*(in press)
3. Kawasaki A, Ito S, Furukawa H, Hayashi T, Goto D, **Matsumoto I**, Kusaoi M, Ohashi J, Graham R R, Matsuta K, Behrens T W, Tohma S, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N.: Association of TNIP1 with systemic lupus erythematosus in a Japanese population : a case-control association study. *Arthritis Res. Ther.*(in press)
4. Tsuboi H, Wakamatsu E, Iizuka M, Nakamura Y, Sugihara M, Suzuki T, Ogishima H, Hayashi T, Goto D, Ito S, **Matsumoto I**, Sumida T.: Importance of serine727 phosphorylated STAT1 in IFN γ -induced signaling and apoptosis of human salivary gland cells. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 14(1): 86-91,2011
5. Iizuka M, Wakamatsu E, Tsuboi H, Nakamura Y, Hayashi T, Matsui M, Goto D, Ito S, **Matsumoto I**, Sumida T. M3 muscarinic acetylcholine receptor reactive immune response induces Sjogren's syndrome-like sialoadenitis. *J.Autoimmunity*. 3 5(4):383 -9,2010
6. Tsuboi H, **Matsumoto I**, Wakamatsu E, Nakamura Y, Iizuka M, Hayashi T, Goto D, Ito S, Sumida T. New epitopes and function of anti-M3 muscarinic acetylcholine receptor antibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Clin. Exp. Immunol*. 162(1):53 -61,2010
7. Kawasaki A, Ito I, Ito S, Hayashi T, Goto D, **Matsumoto I**, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T, Tsuchiya N. Association of TNFAIP3 polymorphism with susceptibility to systemic lupus erythematosus in a Japanese population. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. in press
8. Sumida T, Tsuboi H, Iizuka M, Nakamura Y, **Matsumoto I**. Functional role of M3 muscarinic acetylcholine receptor (M3R) reactive T cells and anti-M3 R autoantibodies in patients with Sjogren's syndrome. *Autoimmunity Reviews* 9: 615-7, 2010
9. Segawa S, Goto D, Yoshiga Y, Sugihara M, Hayashi T, Chino Y, **Matsumoto I**, Ito S, Sumida T. Inhibition of transforming growth factor- β signaling attenuates IL-18 plus IL-2-induced interstitial lung disease in mice. *Clin. Exp. Immunol*. 160: 394-402, 2010
10. Ito I, Kawasaki A, Ito S, Kondo Y, Sugihara M, Horikoshi M, Hayashi T, Goto D, **Matsumoto I**, Tsutsumi A, Takasaki Y, Hashimoto H, Matsuta K, Sumida T, Tsuchiya N. Replication of association between *FAM167A(C8orf13)*-*BLK* region and rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Ann Rheum Dis*. 69:936-7, 2010
11. Chen Q, Muramoto K, Masaaki N, Ding Y, Yang H, Mackey M, Li W, Inoue Y, Ackermann K, Shirota H, **Matsumoto I**, Spyvee M, Schiller S, Sumida T, Gusovsky F, Lamphier M. A novel antagonist of the

- prostaglandin E(2) EP(4) receptor inhibits Th1 differentiation and Th17 expansion and is orally active in arthritis models. *Br J Pharmacol.* 160:292-310, 2010
12. Wang Y, Ito S, Chino Y, Goto D, **Matsumoto I**, Murata H, Tsutsumi A, Hayashi T, Uchida K, Usui J, Yamagata K, Sumida T. Laser Microdissection-based Analysis of Cytokine Balance in the Kidneys of Patients with Lupus Nephritis. *Clin. Exp. Immunol.* 159:1-10, 2010.
 13. **松本功** 関節リウマチを疑ったら 診断治療の update と鑑別すべき膠原病—シェーグレン症候群—*medicina in press*
 14. 明石直嗣、**松本功**、住田孝之 関節リウマチ治療におけるイマチニブの可能性 分子リウマチ治療 3; 179-182, 2010
 15. **松本功**、井上明日香、田中陽子 関節炎における TNFa-induced adipose related protein (TIARP) リウマチ科 44: 354-360, 2010 **松本功**、井上明日香、田中陽子、明石直嗣、岩波慶一、住田孝之 TNF・誘導分子 TIARP と自己免疫疾患 *Mebio* 27:68-75, 2010
 16. 住田孝之、坪井洋人、飯塚麻菜、中村友美、**松本功** M3 R 反応性 T 細胞とシェーグレン症候群 *Mebio* 27:84-93, 2010
 17. **松本功** 膠原病—病態への新たなアプローチと治療展開— 関節リウマチの分子標的と制御 最新医学 65:960-964, 2010
 18. **松本功** 実験的関節炎に対するリボゾームを用いた抗原特異的治療戦略 リウマチ科 43 :385-393, 2010
- G. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許
特願 2008-022714 号—関節炎誘発ペプチド—
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし

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

成人型分類不能型免疫不全症の診断基準・診断方法の確立及び治療方法の開発に関する研究—成人型分類不能型免疫不全症に対応する内科における診療体制の構築を目指して

研究分担者 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 准教授

研究要旨：

アンケート調査から、56名の成人型分類不能型免疫不全症患者が内科へ通院していることが明らかとなったが、ほとんど成人発症であり、小児科からの転科は1名であった。成人型分類不能免疫不全症では、自己免疫疾患や悪性腫瘍の合併頻度が高く、病像が複雑で、総合的な診療を要することも示された。成人型分類不能型免疫不全症患者の予後を改善するためには、早期発見、早期治療、合併症のモニタリングとその対応が必須であり、今後、内科医への啓発活動、内科医のためのガイドライン作成、診断及び治療のための支援体制（相談窓口）、専門施設やネットワークの構築等の対策を講じる必要があると考えられた。

A. 研究目的

分類不能型免疫不全症（CVID）を含め多くの原発性免疫不全症は、小児科医が診療に当たっており、厚生労働省原発性免疫不全症班を基盤として、本邦の小児患者に対応する診療体制は充実している。しかし、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、内科通院中の患者の実態及び診療体制について明らかでない。本研究では、全国調査、自験例、文献より、その問題点を抽出し、成人型CVIDに対する診療体制の構築を目指す。

B. 研究方法及び研究結果

1. 全国調査から

アンケート調査時において、内科へ通院中のCVID患者数は56名で、その内訳は、血液関連内科27名、リウマチ関連内科18名、感染症関連内科3名、一般内科8名で、1施設でも、最大3名であった。ほとんど

の患者は、成人発症であり、小児科からの転科は1名のみであった。一方、現在小児科へ通院中の98名の患者において、15歳以上65名、20歳以上54名（最高齢65歳）であり、小児科から内科への転科が進んでいない状況が明らかとなった。

また、CVIDは、自己免疫疾患や悪性腫瘍を合併することが示されているが、アンケート調査により、本邦での、自己免疫疾患の合併が19%、悪性腫瘍の合併が10%と、特に40歳以上では、それぞれ、36.7%、22.4%と増加する事が明らかとなった。

2. 自験例より

28歳男性

診断名：伴性無ガンマグロブリン血症

主訴：下腿皮膚潰瘍、血小板低下

現病歴及び臨床経過：幼少時に伴性無ガンマグロブリン血症（遺伝子解析にて、exon5 skip (intron 5 GT→AT in splice donor site)と

診断され、以後定期的にガンマグロブリン製剤の投与を受けていた。平成 18 年、転居に伴い、阪大病院受診、入院に至る感染症の合併は認めず経過していた。平成 21 年、左下腿に炎症性腫脹出現、抗生物質に反応なく、潰瘍を生じ、皮膚科へ入院。皮膚生検にて、壊疽性膿皮症と診断。外用薬やミノマイシンにて潰瘍は縮小し、一度は退院となった。しかし、平成 22 年 4 月に、発熱、皮膚潰瘍の増悪、血小板低下を合併し、入院となった。本症例においては、無ガンマグロブリン血症に、ステロイド剤や免疫抑制剤に抵抗する壊疽性膿皮症、血小板低下症（その後汎血球低下症）が合併し、病像把握や治療のため、皮膚科、形成外科、免疫内科、血液内科、精神科で構成される医療チームにて診療に当たったが、患者は、脳梗塞を合併し死亡された。

(倫理面への配慮)

本研究では、患者検体を用いて解析を行うものであり各種指針を遵守して実施した。

C. 考察

成人領域の原発性免疫不全症として、CVID、IgA 欠損症、伴性無ガンマグロブリン血症、IgG サブクラス欠損症、補体欠損症、遺伝性血管性浮腫など挙げられ、今後予後の改善に伴い内科へ通院する患者が増加するものと予測される。本調査により、成人で発症した CVID 患者は内科が窓口となっているが、小児期発症の CVID 患者の内科への転科は進んでいない。また、CVID 患者を診療している施設、科においても、最大 3 名であることより、内科初診の場合、CVID の診断に時間を要しているものと予想される。CVID の予後改善には、早期診断、早期治療、合併症に対する早期の対応が必須であり、一般内科医への啓発活動や内科医のためのガイドライン作成等により、CVID の周知度を向上させるとともに、内科における原発性免疫不全症の診療専門施設の充実、小児免疫不全症専門医、施設との強力な連携ネットワークの構築が必要と考えられた。

血小板低下や壊疽性膿皮症を合併した伴性無ガンマグロブリン血症の自験例を報告したが、特に、CVID では、感染症、自己

免疫疾患、悪性腫瘍、肉芽腫、アレルギー性疾患を合併する事が多く、病像が複雑となり、総合的な診療が要求される。合併症対策に対する EBM はほとんどなく、現状では、症例報告の文献検索に頼らざる得ない状況にあるが、診断、病像理解、治療のための支援体制（相談窓口）の設置が望まれる。

D. 結論

成人型分類不能型免疫不全症患者の予後を改善するためには、早期発見、早期治療、合併症のモニタリングとその対応が必須であり、今後、内科医への啓発活動、内科医のためのガイドライン作成、診断及び治療のための支援体制（相談窓口）、専門施設やネットワークの構築等の対策を講じる必要があると考えられた。

E. 研究発表

- 論文発表
- Ogata A, Mori M, Hashimoto S, Yano Y, Fujikawa T, Kawai M, Kuwahara Y, Hirano T, Arimitsu J, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Yokota S, Kishimoto T, Kawase I, **Tanaka T**. Minimal influence of tocilizumab on IFN-g synthesis by tuberculosis antigens. *Mod Rheumatol*. 20:130-3. 2010.
- Tanaka T**, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, Kawase I, Kishimoto T. Treatment of a patient with remitting seronegative, symmetrical synovitis with pitting oedema with a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab. *Rheumatology* 49: 824-6. 2010.
- Hagihara K, Kawase I, Kishimoto T, **Tanaka T**. Tocilizumab ameliorates clinical symptoms in polymyalgia rheumatica. *J Rheumatol*. 37:1075-6. 2010.
- Tanaka T**, Kawase I, Kishimoto T. Reply to interleukin-6 as a target in spondyloarthritis. *Arthritis Care & Res*. 62: 745-6. 2010.
- Shima Y, Kuwahara Y, Murota H, Kitaba S, Kawai M, Hirano T, Arimitsu J, Narazaki

- M, Hagihara K, Ogata A, Katayama I, Kawase I, Kishimoto T, **Tanaka T**. The skin of patients with systemic sclerosis softened during the treatment with anti-IL-6 receptor antibody tocilizumab. *Rheumatology*. 49: 2408-12. 2010.
6. Oji Y, Oka Y, Nishida S, Tsuboi A, Kawakami M, Shirakata T, Takahashi K, Muraio A, Nakajima H, Narita, Takahashi M, Morita S, Sakamoto J, **Tanaka T**, Kawase I, Hosen N, Sugiyama Y. WT-1 peptide vaccine induces reduction in minimal residual disease in an imatinib-treated CMP patient. *Eur J Haematol*. 85:358-60. 2010.
 7. Narazaki, M, Seagarra M, Hou X, **Tanaka T**, Li X, Tosato G. Oligo-guanosine nucleotide induces neuropilin-1 internalization in endothelial cells and inhibits angiogenesis. *Blood*. 116:3 099-107. 2010.
 8. **Tanaka T**, Ogata A, Narazaki M. Tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol*. 6:843-54 .2010.
 9. Ogata A, Morishima A, Hirano T, Hishitani Y, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, **Tanaka T**. Improvement of HbA1c during treatment with humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab. *Ann Rheum Dis*. 2010 Oct 26 Epub ahead of print
 10. Nishida S, Kawasaki T, Kashiwagi H, Morishima A, Hishitani Y, Kawai K, Hirano T, Ishii T, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, Oka Y, Kishimoto T, **Tanaka T**. Successful treatment of acquired hemophilia A complicated by chronic GVHD with tocilizumab. *Mod Rheumatol*. in press.
2. 学会発表
 1. Ogata A, Kawai M, Morishima A, Ogawa M, Ishii T, Kuwahara Y, Hirano T, Nishida S, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Yoshizaki K, **Tanaka T**, Kishimoto T. Clinical effects of tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody on patients with autoimmune and inflammatory diseases. EULAR (The European League Against Rheumatism) meeting 2010, 16-19 June, Rome, Italy.
 2. Ogata A, Mori M, Hashimoto S, Kawai M, Morishima A, Kuwahara Y, Ogawa M, Hirano T, Ishii T, Arimitsu j, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Kishimoto T, **Tanaka T**. Tocilizumab does not inhibit interferon synthesis which is a key step of anti-mycobacterial host defences. EULAR (The European League Against Rheumatism) meeting 2010, 16-19 June, Rome, Italy.
 3. Narazaki M, Kawai M, Morishima A, Kuwahara Y, Ishii T, Hirano T, Hagihara K, Shima Y, Ogata A, Kishimoto T, **Tanaka T**. Insufficient effect of tocilizumab on the patients with rheumatoid arthritis who have splenomegaly. EULAR (The European League Against Rheumatism) meeting 2010, 16-19 June, Rome, Italy.
 4. Hagihara K, Morishima A, Kawai M, Arimitsu J, Ishii T, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, **Tanaka T**. Tocilizumab increases the population of CD4+ CD25+ CD127low regulatory T cells in patients with chronic inflammatory diseases. EULAR (The European League Against Rheumatism) meeting 2010, 16-19 June, Rome, Italy.
 5. Hagihara K, Murota H, Sakata Y, Morishima A, Kawai M, Arimitsu J, Ishii T, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, **Tanaka T**. Analysis of effect of bosentan on Raynaud's phenomenon in connective tissue disease-related PAH patients using a Bio-Plex cytokine array. EULAR (The European League Against Rheumatism) meeting 2010, 16-19 June, Rome, Italy.
 6. **Tanaka T**, Kawai M, Morishima A, Ogawa M, Ishii T, Kuwahara Y, Hirano T, Nishida S, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, Yoshizaki K, Kishimoto T. Clinical effects of tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody on patients with autoimmune and inflammatory diseases. 4th International Congress of Immunology, 22-27 August, Kobe, Japan.
 7. Hagihara K, Murota H, Sakata Y,

8. Morishima A, Kawai M, Ishii T, Arimitsu J, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, **Tanaka T**. Analysis of effect of bosentan on Raynaud's phenomenon in connective tissue disease-related PAH patients using a Bio-Plex cytokine array. 14th International Congress of Immunology, 22-27 August, Kobe, Japan.
9. 緒方篤、梅垣知子、森島淳仁、河合麻理、石井泰子、平野亨、萩原圭祐、嶋良仁、**榑崎雅司**、**田中敏郎**、川瀬一郎 乾癱性關節炎に対する Tocilizumab の効果 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 714, 2010.
10. 嶋良仁、桑原裕祐、河合麻理、平野亨、森島淳仁、石井泰子、有光潤介、萩原圭祐、**榑崎雅司**、緒方篤、**田中敏郎** ヒト化抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) による強皮症治療の試み 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 579, 2010.
11. 萩原圭祐、森島淳仁、河合麻理、桑原裕祐、有光潤介、石井泰子、平野亨、嶋良仁、**榑崎雅司**、緒方篤、**田中敏郎** ステロイド抵抗性であったリウマチ性多発筋痛症患者にトシリズマブが奏効した一例 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 644, 2010.
12. 萩原圭祐、有光潤介、森島淳仁、河合麻理、桑原裕祐、石井泰子、平野亨、嶋良仁、**榑崎雅司**、緒方篤、**田中敏郎** 肺高血圧を合併するリウマチ膠原病患者におけるロサルタン/HCTZ 合剤の有用性の解析 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 667, 2010.
13. 萩原圭祐、嶋良仁、森島淳仁、河合麻理、桑原裕祐、有光潤介、石井泰子、平野亨、**榑崎雅司**、緒方篤、**田中敏郎** トシリズマブは再発性多発性軟骨炎の寛解維持に有効である一長期経過報告 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 715, 2010.
14. 萩原圭祐、森島淳仁、河合麻理、桑原裕祐、有光潤介、石井泰子、平野亨、嶋良仁、**榑崎雅司**、緒方篤、**田中敏郎** サイトカイン網羅解析によるレイノー合併肺高血圧患者へのボセンタン多様性効果の検討 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 494, 2010.
15. 河合麻理、**榑崎雅司**、森島淳仁、桑原裕祐、石井泰子、平野亨、萩原圭祐、嶋良仁、緒方篤、川瀬一郎、**田中敏郎** 脾腫を伴った関節リウマチ患者ではトシリズマブの効果が減弱する 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 581, 2010.
16. 森島淳仁、緒方篤、萩原圭祐、河合麻理、桑原裕祐、有光潤介、石井泰子、平野亨、嶋良仁、**榑崎雅司**、**田中敏郎** Tocilizumab の HbA1c 改善効果について 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 583, 2010.
17. 田中枝里子、平野亨、松下正人、大島至郎、**田中敏郎**、佐伯行彦 Th2 サイトカイン優位のミクリッツ病の 1 例-シェーグレン症候群との相違の可能性 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会 page 640, 2010.
18. **田中敏郎**、河合麻理、平野亨 フラボノイドによる喘息に対する補完代替療法 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会 page 286, 2010.
19. 河合麻理、平野亨、小川真佐子、森島淳仁、桑原裕祐、石井泰子、有光潤介、萩原圭祐、**榑崎雅司**、嶋良仁、緒方篤、川瀬一郎、**田中敏郎** フラボノイドのスギ花粉症に対する有効性の検証 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会 page 427, 2010.
20. 田中枝里子、平野亨、原田芳徳、片田圭宣、松下正人、大島至郎、**田中敏郎**、佐伯行彦 Th2 優位の可能性を示唆したミクリッツ病の一例-原発性シェーグレン症候群と比較検討 第 22 回日本アレルギー学会春季臨床大会 page 436, 2010

F. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

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

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

研究分担者 小原 収 かずさ DNA 研究所 副所長

研究要旨：

分類不能型免疫不全症の確定診断を可能とするために、その疾患発症原因となる可能性のある遺伝子解析とその網羅的な取り組みに向けた技術基盤整備を行った。特に今年度は、分類不能型免疫不全症疑い検体に対して現在疾患原因として知られているのべ477 遺伝子の構造解析を行ったが、それらの遺伝子にはいずれも疾患原因と想定されるような変異は極めて稀な頻度でしか見いだせなかった。この結果は、分類不能型免疫不全症が多様な病態をもつ事実と考え合わせると、原因遺伝子変異特定のためには病態の正しい亜分類法の確立と協調的に遺伝子解析が行われなければならない事を確認させるものである。この問題解決に向けて、こうした未知疾患原因遺伝子変異の網羅的探索のために次世代シーケンシング技術を適用することを目指し、候補遺伝子を絞り込むための生物情報学的検討とツールの開発を行った。

A. 研究目的

分類不能型免疫不全症（Common variable immunodeficiency;以下 CVID と略）は頻度高く見られる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解明のままの部分が多い。そうした成人型の CVID の疾患概念の整理・疾患本態の解明を目指す本研究において、確定診断のための CVID 責任遺伝子の同定を最終的な目的として、昨年度に続いて系統的な疾患原因遺伝子変異探索を継続し、より網羅的な原因遺伝子探索システムを構築することを今年度の目的とした。

B. 研究方法

(1) CVID の疑いのある患者検体について、既知の CVID 責任遺伝子の構造解析を行う。昨年に続いて BAFFR (TNFRSF13C), CD19, ICOS, SH2DIA, TACI (TNFRSF13B)を既知遺伝子として解析対象としただけでなく、今年度は新たな候補遺伝子として

APRIL(TNFSF13), BAFF (TNFSF13B), BIRC4 (XIAP), ICOSL, ITK1 も解析した。これらの遺伝子のタンパク質コードエクソン領域をその両端に存在するイントロン領域（20 塩基以上）を酵素的増幅法（PCR 法）で増幅するためのプライマー合成、ゲノム DNA からの増幅反応、増幅産物の DNA 塩基配列解析、得られた配列のデータベース中のリファレンス配列との比較を行った。この塩基配列比較においては、我々が開発した Mutation@A Glance (<http://rapid.rcai.riken.jp/mutation/>)を活用した。

(2) 次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子解析のために、どのような遺伝子が候補になりうるかの生物情報学的解析を行い、その遺伝子リストを臨床・基礎免疫研究者に提示し、更なるフィルタリング作業を行い、最終的な候補リストを作成する。その遺伝子リストから、実際の解析対象となるエクソン領域情報を抽出し、それらを実験

的に濃縮するためのプローブデザインを行う。

(倫理面への配慮)

臨床検体は共同研究者の施設で採取・調製され、匿名化された状態でのみ受け入れ、受け入れ時にそれぞれの施設で同意書へのサインが行われていることを確認した。今回の研究ではゲノム DNA の構造解析を含むため、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(平成13年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)に従い、(財)かずさDNA研究所での倫理審査委員会による承認を得て行った。

C. 研究結果

本年度は、CVID 疑い検体に対して、候補の10種類の遺伝子に対して、のべ447遺伝子の構造解析を行った。その結果、TACI(TNFRSF13B)においてのみ、アミノ酸変化を伴う既知の一塩基多型が検出されたものの、タンパク質機能に大きな影響を与えることが示唆されるような変異は他に見出されなかった。

さらに、昨年 CVID の責任遺伝子となりうる遺伝子候補を新たに開発した生物情報学的手法で抽出した。今年度は、実際にそれらの候補遺伝子を網羅的に解析するために、何らかの実験的な根拠から可能性があると考えられる遺伝子などを更にそのリストに追加し、最終的に約 2500 遺伝子の CVID 候補遺伝子リストを作成した。そのリストを研究班内で検討していただき、最終的な候補遺伝子リストとして完成した。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ための DNA マイクロアレイ (Roche, NimbleGen シーケンスキャプチャー法) のためのプローブデザインを行い、候補遺伝子のタンパク質コード領域エクソンを網羅的に大規模シーケンシングによって解析する準備を完了した。こうした機能的な観点から絞り込むアプローチに加えて、近親婚の疾患の家族歴を踏まえた遺伝学的方法での候補遺伝子領域選択もいくつかの症例に対して行い、その領域に含まれる遺伝子のタンパク質コード領域エクソンを網羅的に大規模シーケンシングによって解析する準備も完了した。

D. 考察

1) 達成度について

今年度に予定していた研究課題はほぼ達成できた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

次世代シーケンサーによる疾患責任遺伝子探索は正に国際的な競争が激化している時期であり、それを活用して CVID の亜分類を可能とするための準備が整えられた。

3) 今後の展望について

次年度以降、CVID の全国調査結果、CVID 免疫担当細胞解析結果、CVID 合併病態解析結果の情報と得られた塩基配列結果を組み合わせることで、責任遺伝子同定への大きな進展が見込まれる。

4) 研究内容の効率性について

異分野間が CVID をキーワードに連携するプロジェクトであり、効率的に研究は展開されている。本年度の各種データ蓄積の成果を受けて、更に研究が加速されることが期待できる。

E. 結論

今年度の CVID 責任遺伝子探索の準備は順調に進捗した。予想通り、CVID の病態の多様性のために、現在既知の遺伝子だけでそれらの病態多様性が説明できるとは考えられず、実際、今年度の検体でも既知遺伝群に疾患関連性の変異はほとんど見いだせなかった。次年度以降での各種情報の統合化と大規模シーケンシングの実施によって CVID 亜分類を可能とする新たな方法論の確立が達成されれば、それによって初めて実際の診断に寄与できる CVID 責任遺伝子変異の同定が期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 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. *J Clin Immunol*. 2011 Jan 8. [Epub ahead of print]

2. Asai E, Wada T, Sakakibara Y, Toga A, Toma T, Shimizu T, Nampoothiri S, Imai K

Nonoyama S, Morio T, Muramatsu H, Kamachi Y, **Ohara O**, Yachie A. Analysis of mutations and recombination activity in RAG-deficient patients. *Clin Immunol*. 2010 Dec 3. [Epub ahead of print]

3. Aghamohammadi A, Imai K, Moazzami K, Abolhassani H, Tabatabaeiyan M, Parvaneh N, Nasiri Kalmarzi R, Nakagawa N, Oshima K, **Ohara O**, Nonoyama S, Rezaei N. Ataxia-telangiectasia in a patient presenting with hyper-immunoglobulin M syndrome. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2010 20(5):442-5.
4. Tsuge I, Kondo Y, Nakajima Y, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, **Ohara O**, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Urisu A. Hyper IgM syndrome and complement Clq deficiency in an individual with systemic lupus erythematosus-like disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2010 28(4):558-60.
5. Hijikata A, Raju R, Keerthikumar S, Ramabadran S, Balakrishnan L, Ramadoss SK, Pandey A, Mohan S, **Ohara O**. Mutation@A Glance: an integrative web application for analysing mutations from human genetic diseases. *DNA Res*. 2010 Jun;17(3):197-208.

2. 学会発表

1. Kumar Ramadoss S, Keerthikumar S, Raju R, Kandasamy K, Balakrishnan L, Dhevi Nagarajha Selvan L, Raja Sekhar N, Mohan S, Bhattacharjee M, Hijikata A, Imai K, Kanegane H, Miyawaki T, Nonoyama S, Pandey A, **Ohara O**, Mohan S. Resource of

Asian Primary Immunodeficiency Diseases (RAPID) update: an open web-based integrated molecular database on primary immunodeficiencies 9th European Conference on Computational Biology (ECCB10) 2010年9月 Ghent, Belgium

2. Kumar Ramadoss S, Keerthikumar S, Raju R, Kandasamy K, Balakrishnan L, Dhevi Nagarajha Selvan L, Raja Sekhar N, Bhattacharjee M, Hijikata A, Imai K, Kanegane H, Miyawaki T, Nonoyama S, Pandey A, **Ohara O**, Mohan S. RAPID elucidation of autoimmune-mediated inflammatory disease regulatory mechanisms and depiction of signaling pathways in Primary Immunodeficiency Diseases XIVth meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID2010) 2010年10月 Istanbul, Turkey

3. 本間健一、今井耕輔、釜江智佳子、中川紀子、野々山恵章、大嶋宏一、満生紀子、**小原收**、Sheela Nampothiri, Deepti Suri, Amit Rawat, Surjiti Singh 最近3年間にインドより当科へ紹介された原発性免疫不全症に対する検討 第四回日本免疫不全症研究会 2011年1月22日 九州大学

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

成人型分類不能型免疫不全症の診断基準・診断方法の確立及び
治療方法の開発に関する研究

研究分担者 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

研究要旨：

不均一な疾患である CVID の正確な診断基準と亜群の特定、および発症機序の理解を目指し、9のパラメーターを用いた新たな FACS 解析法を開発した。この技術を用い、CVID において (1)抗原感作前 B 細胞数の減少 (2)抗原感作前 B 細胞数は正常であるが、記憶 B 細胞/抗体産生前駆細胞数が減少、(3)抗原感作前 B 細胞数は正常、但し NK 細胞および制御性 T 細胞数が減少、の 3 群を分別した。

A. 研究目的

成人型分類不能型免疫不全症の特徴を呈する免疫細胞動態と発現遺伝子を明確にし、現在不均一な疾患である CVID の診断基準と発症機序を明らかにする。

B. 研究方法

成人型分類不能型免疫不全症患者および健康人末梢血よりパーコールにより濃縮して得た白血球の B 細胞分画を多重染色による FACS 解析を用いて明らかにした。

B 細胞は、CD19-eFluor450, CD27-eFluor650, IgD-PE, CD24 -Alexa647, CD38-PECy7 を用いた細胞表面抗原の染色を行った。

さらに B 成熟に対応して獲得される ATP-binding Cassette transporter の機能を Mitotracker (MT) 染色により識別して記憶 B 細胞および transitional B 細胞分画の正確な同定を行った。また従来細胞内染色の手法が用いられていた制御性 T 細胞の同定を CD3, CD4, IL7 receptor, CD25 の細胞表面染色で行う事を可能とし、また抗体産生に重

要な濾胞ヘルパー T 細胞の同定も、CD3, CD4, CXCR5, ICOS, PD1 に対する多重染色を用いて確立した。

(倫理面への配慮)

本研究では、患者検体を用いて解析を行うものであり各種指針を遵守して実施した。本研究は理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター倫理審査委員会による承認をえて行った。

C. 研究結果

白血球細胞数が同程度である CVID 患者の約 50%では全リンパ球数に対する CD19 陽性で抗原非感作 B 細胞数が減少していた。減少を伴わない患者ではクラススイッチを終了した記憶 B 細胞(MT 陽性/IgD 陰性/CD27 陽性/CD38 陰性)および抗体産生前駆細胞(MT 陽性/IgD 陰性/CD27 陽性/CD38 陽性)の減少が認められた。この群での B 細胞分化成熟に関わる何らかの異常が示唆され、両者の細胞群では共通して発現する遺伝子が多く認められている。

現在 IgM 陽性の記憶 B 細胞の表現型は不明であるが、これらの患者群に置いて IgM 記憶 B 細胞の減少が認められうるかは今後の検討課題である。

一方興味ある結果として、B 細胞異常以外に、それぞれ自己免疫、糖尿病、リンфомアを併発する 3 例において、全白血球数は正常であるものの、NK 細胞および抑制性 T 細胞の著明な減少が認められた。これらの細胞は免疫制御に重要な役割を果たすことから、認められた数の減少が臨床症状とどのように関連するかは多方面からの解析が必要である。

D. 考察

CVID 患者における免疫学的なマーカーを用いた解析はこの疾患における亜群を整理する上で重要である。しかし、この作業が臨床的な補助診断へのステップの一環として位置づけるためには、免疫学的に分類される群での臨床的な検査結果との相関を対比しさらに分別されるか否かを明らかにする事が必要で、今後の作業として残される。この作業はさらに多くの患者検体の解析が必要とされるが、そのパネルの構築は疾患発症の要因についての考察と、対応する遺伝子の探索にも有用であると考えられる。

過去の解析からヒト CD27 陽性記憶 B 細胞はその抗体遺伝子に体細胞変異を蓄積する事から、本研究で明らかになった記憶 B 細胞および抗体産生細胞前駆細胞が同時に減少する症例は、B 細胞の胚中心依存性の成熟過程でのなんらかの不全を意味する。胚中心での B 成熟特に記憶 B 細胞産生に関

わる分子は現在不明である。従ってこれらの疾病の原因遺伝子の解明には世界的趨勢として網羅的な発現遺伝子シーケンスが一つの有用な手段となるが原因と結果との最終的な評価には新たなシステムの整備が必要となる。他の方法は地道であるが記憶 B 細胞に特異的に発現増強、あるいは減少する遺伝子の同定である。分担者はこれまでネズミのモデル系を用いこの作業を続けこれまで二つの高頻度に発現する転写因子を同定したが、同様の行程でヒト記憶 B 細胞関連遺伝子を探索する方法も可能であろう。

一方 B 細胞以外の異常の有無を検討した検討では、自己免疫、リンфомア等の併発を示す患者検体で末梢血の NK 細胞、および抑制性 T 細胞の頻度の減少が認められた。これらの異常が免疫不全とともに併発する疾患の原因となるか否かは今後の解析が必要であると同時になぜ二つの異なる系列の細胞が影響を被るかを考える必要がある。

E. 結論

本研究では多くの免疫細胞亜集団を同時に正確に測定する技術が確立され、今後検討例を増加させることにより CVID における免疫学的な多様性と臨床的な多様性とのリンクが可能になるか明らかにされるであろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Fujimura T, Yonekura S, Taniguchi Y, Horiguchi S, Saito A, Yasueda H, Nakayama T, **Takemori T**, Taniguchi M,

- Sakaguchi M, Okamoto Y.: The Induced Regulatory T Cell Level, Defined as the Proportion of IL-10⁺ Foxp3⁺ Cells among CD25⁺ CD4⁺ Leukocytes, Is a Potential Therapeutic Biomarker for Sublingual Immunotherapy: A Preliminary Report. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010; 153 (4): 378-87.
2. Kishi Y, Aiba Y, Higuchi T, Furukawa K, Tokuhisa T, **Takemori T**, Tsubata T.: Augmented antibody response with premature germinal center regression in CD4⁰L-transgenic mice. *J Immunol.* 2010 Jul 1;185(1):211-9.
2. 学会発表
1. Kaji T, Sugimoto A, Hikida M, Nishio T, Aiba Y, Takahashi Y, Kurosaki T and **takemori T**. Non-mutated memory B cells develop under T-cell help without germinal center reaction, followed by the functional maturation as immune response progresses. 14th International Congress of Immunology. August 22-27, 2010
 2. Hikida M, Kaji T, Takahashi Y, Rajewsky K, **Takemori T**. IgG1 memory B cell compartment undergoes qualitative alteration after its initial generation early in the immune response. 14th International Congress of Immunology. August 22-27, 2010
 3. Kaji T, Sugimoto-Ishige A, Hikida M, Taka J, Aiba Y, Kurosaki T, Takahashi Y, Rajewsky K and **Takemori T**. Memory B cell generation and functional maturation; distinct cellular pathways establish B cell memory. Development and Maintenance of Immune Memory in Tokyo, December 4, 2010
- G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

IV 研究成果の刊行に関する一覧