

201128032B

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

血球貪食症候群の病態・診療研究

平成22年度～23年度 総合研究報告書

研究代表者 安 友 康 二

平成24 (2012) 年5月

目 次

[I] 総合研究報告	
1. 血球貪食症候群の病態・診療研究	1
安友康二	
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部生体防御医学分野	
[II] 研究成果の刊行に関する一覧表	1 9
[III] 研究成果の刊行物・別刷	3 5
[IV] 班構成員名簿	1 2 3

[I] 総合研究報告

総合研究報告書

血球貪食症候群の病態・診療研究

研究代表者 安友康二 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授

研究要旨：

血球貪食症候群(HPS)は、多様な原因で発症する致死性の疾患であるため、その早期発見と適切な治療が要求される。HPSは原発性と二次性に大別され、その病態は多様であると考えられる。家族性血球貪食症候群(FHL)は、常染色体劣性遺伝で家族性に発症する致死性疾患群であり、最も重症なHPSであり早期の診断・治療が必要とされる。本研究班では、日本のHPSの実態を把握し、その病態および診断・治療法の開発を目的とする研究を実施するために構成された。HPSの実態を把握するためにJPLSGと連携し継続したHPS病態・診療研究体制を継続して、症例の把握に努めた。二年間の研究によって、HPSの治療法の検討および予後、新しい診断法の検討、全エクソーム解析法によってFHLの新たな原因遺伝子の同定などについての成果を収めることに成功した。

研究分担者

- ・石井榮一：愛媛大学大学院医学研究科
- ・安川正貴：愛媛大学大学院医学研究科
- ・藤本純一郎：国立成育医療センター
- ・河敬世：大阪府立母子保健総合医療センター
- ・金兼弘和：富山大学医学部小児科
- ・大賀正一：九州大学病院総合周産期母子医療センター
- ・湯尾明：国立国際医療研究センター研究所
- ・北村明子：徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部

A. 研究目的

血球貪食症候群(HPS)は、先天性と後天性に大別され、多様な原因によって発症し、適切な治療が施されないと死に至る極めて重篤な疾患群である。原発性のHPSは家族性血球貪食症候群(Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis; FHL)として知

られており、これまでに欧米のFHLを対象としたゲノム解析から、*PRF1* (perforin), *UNC13D* (*MUNC13-4*), *STX11*(*syntaxin 11*), *STXBP2* (*MUNC18-2*) の遺伝子異常が報告されている。しかし、約20%の症例では未だその原因遺伝子は同定されておらず、正確な確定診断や、それに基づく適正な治療法は確立されていないという実情がある。FHLはHPSの中でも特に重篤であり、早期の診断および治療が要求される。しかし、HPSの実態を把握した後に、診断・治療法の検討、HPSの原因の解明、などに総合的に取り組む組織は存在していなかった。

以上の背景から、本研究班ではHPSの実態を把握して、適切な診断および治療法を確立することを目指した。さらに、FHLの原因遺伝子を同定し、FHLの発症機構を解明する事により、新しいHPSの治療法の開発も目標とした。

下記の研究項目について、二年間で研究を実施した。

- (1) FHLにはこれまで4種類の原因遺伝子が報告されているが、日本のFHL症例の20%程度の症例では、未だ原因遺伝子が同定されていない。本研究班では、未だ原因が不明のFHL症例の原因遺伝子を同定することを目的とした。
- (2) 原発性HLHの唯一の根本的治療である同種造血幹細胞移植 (HSCT) の成績を向上させることが主たる目的である。移植後にみられる合様々な合併症の中でも、移植片対宿主病 (GVHD) とウイルス感染症は頻度が高く、時に重症化して致死的経過をとるため、移植成績の改善における最重要課題である。ところが前者は免疫抑制療法を必要とし、後者には薬物療法のみならずレシピエントの抗ウイルス免疫が必須である。すなわち両者は相反する対応が迫られており、また一方の治療中にもう一方の重症化がしばしばみられるため、その克服には調整の難しいバランスを必要としている。主目的を達成するため、移植後の免疫抑制療法中における、ウイルスに対するTリンパ球性免疫、数量的評価、機能的評価の方法を確立することを試みた。
- (3) X連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) は致死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、悪性リンパ腫を臨床的特徴とする比較的稀な先天性免疫不全症である。1998年にその責任遺伝子*SH2D1A/SAP*が同定され、遺伝子診断が可能となり、わが国においても少なからずXLPが存在することを明らかになってきた。しかし家族歴を有しながら、約20%のXLPでは*SH2D1A/SAP*変異が存在せず、2006年にフランスのRigaudらは第二の責任遺伝子として*XIAP/BIRC4*を同定した。アメリカの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。本邦初のXIAP欠損症を報告したが、さらに3家系5例のXIAP欠損症を同定したので、わが国のXIAP欠損症の臨床的・遺伝学的特徴を明らかにする。

- (4) ヒトES細胞が樹立されて以来、血液細胞を分化誘導する様々な試みがなされてきた。ヒトES細胞からの血液細胞の分化に際しては、その本来の性質に関して胎児性マクロファージや卵黄囊型赤芽球などの卵黄能造血のような発生初期の造血を辿りがちであることが知られている。従って、それを避けるために好中球などの2次造血を誘導するための技術開発が、我々を含む複数の研究グループによって推進されてきた。一方、より近年はヒト体細胞を強制的に初期化して作成されたヒトiPS細胞が注目を集め、ヒトES細胞と同様に血球分化が試みられ、ヒトES細胞とほぼ同様の成果が報告されつつある。我々もヒトES細胞において確立した独自の分化誘導法 (好中球主体の分化が得られる手法) を駆使してヒトiPS細胞からの血液細胞分化誘導を検討したところ、マクロファージ主体となってしまった。しかし、分化誘導初期には骨髓系の前駆細胞 (好中球の元になる細胞) は存在し、これをマクロファージが貪食していると思われる所見を得た。このような培養系での血球貪食の機構を解明するために研究を進めた。
- (5) 血球貪食症候群の病態を解明する目的で、FHL患者より、アロ抗原特異的細胞傷害性T細胞 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) を誘導し、その機能解析を行った。CTLの機能異常と遺伝子異常や臨床症状との関連性につき検討し

た。

- (6) 原発性HLHのうちFHL2-5は*PRF*, *UNC13D*, *STX11*および*STXBP2*が、X連鎖リンパ増殖性疾患(XLP)は*SHAD1A*と*BIRC4*が原因遺伝子として同定された。一方、二次性HLHはEpstein-Barrウイルス(EBV)関連(EBV-HLH)が多くを占め、原発性との鑑別が問題となる。FHLは同種造血幹細胞移植(SCT)が唯一の根治療法である。一方、EBV-HLHの遺伝的背景は不明で、同種SCTが必要な例は稀である。FHLおよびEBV-HLH患者の最適な診断と治療法を確立する。
- (7) 2005年以降の新規診断治療例を加えFHLの移植成績を再検討し、より効果的な移植療法を検討する。
- (8) HPSの標準的治療法を確立し、FHLの病態解析を明らかにする。
- (9) FHL患者よりアロ抗原特異的CTLを誘導し、CTLの機能異常と遺伝子異常や臨床症状との関連性につき検討した。さらに、CTLによる標的細胞傷害機構を可視化することを試みた
- (10) HPSの実態を把握するために他の組織との連携が必要であり、日本小児白血病リンパ腫研究グループ(JPLSG)との連携を継続する。

B. 研究方法

1. 班会議を開催し、本班の研究項目について議論する。JPLSGとの連携を構築するために必要事項を検討する。
2. これまで用いてきた治療・診断指針について改訂点を検討する。
3. FHL検体の収集
既知の遺伝子異常は除外されていることを診断基準として日本人FHLの検体を収集する。(倫理面への配慮)本研究は、徳島大学ゲノム倫理審査委員会の承認を得て実施する。個人情報匿名化して取り扱う。

4. 移植療法についてこれまでの問題点を抽出する。

5. 全ゲノム連鎖解析

- (a) SNP タイピング; 全ゲノム領域を網羅する高密度SNPマッピングアレイを用いて、SNP遺伝子型タイピングを行う。
- (b) 連鎖解析; Merlin programを用いて全ゲノム連鎖解析を行い、既知の遺伝子座への連鎖を除外し、新規候補遺伝子座を同定する。
- (c) ホモ接合体マッピング;
HomozygosityMapper programを用いて、罹患者が共有し非罹患者が共有していない連続ホモ接合体領域を検出する。
- (d) 候補遺伝子の同定; 有意な連鎖を示し連続してホモ接合体である候補領域について、エクソン及びエクソン-イントロン境界領域をキャプチャー後、次世代シーケンサーで変異検索を行い、候補遺伝子を同定する。

C. 研究結果

- (1) FHL家系を対象とした全ゲノム連鎖解析
8家系28名(患者8名、家系内健常人20名)を対象に、Illumina 370 quadを用いて全ゲノムSNP遺伝子型タイピングを行った。Merlin program(ver.1.1.2)を用いて、常染色体劣性遺伝、完全浸透率モデルで、多点LOD値を算出した。LOD値が陽転化する領域として複数箇所の陽性領域を検出することができた。しかし、疾患遺伝子座の異質性(Locus Heterogeneity)が考えられ、有意なLOD値を満たすことはできなかった。解析をより確実にするためには、より多くの検体が必要であり、現在家系調査・検体収集を継続している。
- (2) 血族家系を対象としたホモ接合体マッピング
近親婚歴を有する2家系(FHL102, FHL-FKOK)の検体採取を行った。FHL-102家系を対象に、Illumina 370 quadを用いて全ゲノムSNP遺伝子型タイピングを行い、3つの連続ホモ接合体領域を候補領域として同定することに成功した

(J-FHL-1, J-FHL-2, J-FHL-3)。3つの候補領域はいずれも、FHL1(9q21.3-22)、FHL2 (*PRF1*, 10q22) FHL3(*UNC13D*, 17q25.1) FHL4(*STX11*, 6q24) FHL5(*STXBP2*, 19p13.3-p13.2)とは重複しておらず、既知の遺伝子座への連鎖は除外できた。3つの候補領域のエクソン及びエクソン・イントロン境界領域をキャプチャー後、次世代シーケンサーで変異検索を行い、一つの候補遺伝子変異を同定した。現在、この遺伝子の機能解析を行っている。また、FHL-FKOK家系についても、ホモ接合体マッピングを行い、FHL-102とは異なる新規候補遺伝子座を同定した。

- (3) 2000年以降のEBV-HLHの治療反応性を解析した。HLH基準 (ASH Ed Prog 2009:127) を満たすEBV量増加例を診断。免疫抑制調節療法 (ITx)、VP16など化学療法 (CTx) およびSCTを段階的に行った。22例 (男9、女13) の年齢中央値は5歳 (9か月~41歳)、EBV初感染19例、再活性化3例。16例中15例の感染標的はT細胞で、EBV DNAの中央値は 1×10^5 copies/mlであった。自然寛解が2例、ITxを20例がうけ12例が軽快。残り8例にVP16を中心とするCTxを施行し5例が軽快し1例が死亡。この死亡例は再活性化例であった。残りEBV再活性化2例もCTxで病勢を制御できずSCTを施行し1例が死亡。CTx群 (n=8) と未施行群 (n=14) を比較したとき、CTx群は治療前有熱期間が長く (p=0.006)、LDHが高く (p=0.028)、sIL-2Rが高かった (p=0.042)。多変量解析で長期発熱 (p=0.017)、sIL-2R高値 (p=0.017) がCTxの必要因子であった。
- (4) FHL5と診断された2症例の*STXBP2*遺伝子解析では、それぞれ①292-294delGCG/88-1g.a②1243-1246delAGTG/1243-1246delAGTの変異が認められ、ウェスタンブロット法にてMunc18-2蛋白発現が欠損していることが確認

された。FHL5と診断された2例のアロ抗原特異的CTLの細胞傷害活性と脱顆粒反応は著しく低下していた。責任遺伝子不明によるFHL (non-FHL2/3/4/5) 2例のCTL細胞傷害活性、脱顆粒反応においてはそれぞれ異なった低下程度を示した。これらの症例の存在から未だ遺伝子異常の同定されていない2つのFHL亜型の存在が示唆された。

- (5) 日本におけるHLH症例は2006年12月よりデータセンターに登録されHLH-2004治療が開始されている。2010年11月末時点で70例の登録症例があった。登録は月平均2例であり累積登録数は予定登録数を上回っている。FHL2が4例、FHL3が3例で、多くはEBVによる二次性HLHであった。EBV-HLHではEBV量の測定とその推移を検討しているが、初期治療相後にEBVが残存している例も多く、ウイルス量と治療予後と相関は認められなかった。一方国際研究による集積ではHLH-2004による3年の全生存率は64%であった。移植前の死亡率16%であり、HLH-94の27%から大幅に改善した。しかし移植後の2年生存率は66%であり、HLH-94と差がなかった。さらに、全例でCTL活性を測定し、異常例のみを対象に遺伝子解析を行った。FHLは二次性血球貪食症候群と臨床的には鑑別が出来ないため、我々はCTL低下または家族発症陽性例のみを真のFHLとして現在の日本におけるFHLの各亜型の頻度を解析した。その結果、FHL2 54%、FHL3 34%、FHL4 0%、FHL5 6%、non-FHL2/3/4/5 6%であった。顆粒放出解析ならびにCTL活性の結果からは未知の遺伝子異常によるFHLが存在する可能性が示唆された。
- (6) CTLの培養系と評価系を確立することができた。健常者のCMVに対するCTL

(CMV-CTL) についての基本的培養条件下での代表的な結果は、CMV-CTL / CD8+T が培養前 0.22%, 培養 1w で 5.3%, 2w で 46.0% と増殖した。培養 2w の間に CMV-CTL 絶対数は 920 cells から 122 万 cells まで増幅し、IFN γ についても 102.2 pg/mL (neg. cont. 14.6, pos. cont. 295.8) と反応が見られた。免疫抑制剤 cyclosporin A (CsA) との関係について、標準濃度 500 ng/mL (臨床的に peak 値 1000, trough 値 250 ng/mL 相当), 低濃度 100 ng/mL (臨床的に peak 250, trough 50 相当), CsA 無添加 (0 ng/mL) で培養した。CsA 0 に対し, CsA 100, CsA 500 ではそれぞれ, CTL は 78.7%, 1.3% であった。IFN γ の産生 においても CMV peptide / positive control 比は 127.8%, 5.4% であった。すなわち CsA が通常量では CTL の増幅も十分な機能もみられない。しかし CsA が閾値以下の低濃度では T リンパ球の増幅は抑えられる (データ未表示) 一方, ペプチド刺激が適切に行われれば CTL の増幅も機能も維持されていた。臨床的には, GVHD 予防薬 CsA は, 初期量ではウイルス感染のリスクが高いが, 当該濃度 (peak 値 250, trough 値 50ng/mL) まで減少できればウイルス感染に対応できると考えてよい。他の免疫抑制剤 tacrolimus (Tac) やステロイド prednisolone (PSL) でも同様の閾値が存在するものと考えられる。臨床的には PSL の閾値は 0.25-0.3mg/kg/day に相当した。

臨床的には, 二次性 HLH を引き起こす一疾患である慢性活動性 EB ウイルス感染症 (CAEBV) の臍帯血移植後の 2 症例で検討することができた。10 歳男児と 11 歳女児であり, いずれも移植後皮膚および消化管 GVHD を来した。前者は CMV 抗原血症に対し抗ウイルス薬も併用したが, PSL を予

定量まで下げることができた後は当該量を維持し, GVHD の再燃をみることなく, 末梢血にて CMV-CTL を誘導 (CMV-CTL / CD8+T = 0.38%) できた。後者は BK ウイルス性出血性膀胱炎を発症した。BK ウイルスには有効な薬剤がないが, PSL を予定量まで下げることができた後は当該量を維持し, GVHD の再燃をみることなく, 出血性膀胱炎も治癒した。疾患は異なる (急性リンパ性白血病でバンク骨髄移植後) が, 13 歳男児においても皮膚と腸の GVHD を発症したが, 低用量 PSL と低用量 CsA (メソトレキセートとセルセプトも併用中) にて GVHD と BK ウイルス性出血性膀胱炎の両方をコントロールすることができた。

- (7) 新たに 3 家系 5 例の XIAP 欠損症を同定した。従来の 1 例を加えた 6 例のうち 3 例は HLH を繰り返しており、症状としては発熱、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 (図 1)、XIAP 欠損症では健常者に比べて有意に NKT 細胞数は減少していた (図 2)。すべての家系で新規の XIAP/BIRC4 遺伝子変異が同定された。

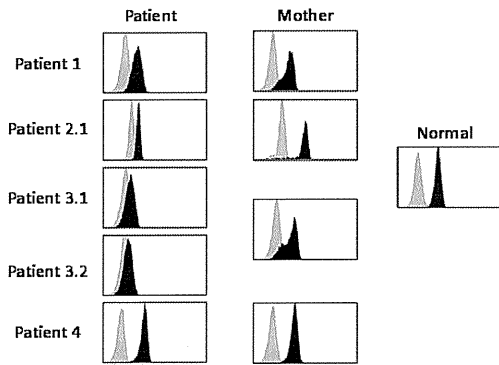


図1 リンパ球内における XIAP 蛋白の発現

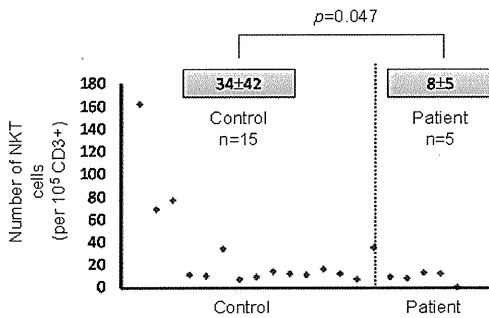


図2 XIAP 欠損症患者と健常者における NKT 細胞数

(8) ヒトES細胞3株、ヒトiPS細胞4株で検討したところ、ヒトES細胞では3株中1株のみで、ヒトiPS細胞では4株全てにおいて分化誘導に伴ってI型インターフェロンの発現が認められた。未分化な状態ではヒトES細胞でもヒトiPS細胞でも発現はなかった。以上のように、ヒトiPS細胞からの血球分化においてI型インターフェロン産生が高頻度である傾向を認めたが、ヒトiPS細胞でも培養条件によっては好中球優位の分化が認められ、一方、ヒトES細胞でも株によってマクロファージ優位の分化が認められた。また、血球貪食との関係は本年度の研究においては明らかではなかった。

(9) 1994年より2009年までに登録されたHLH

症例数は83例であり、NK活性やウイルス検査により二次性として除外されたのは40例であった。遺伝子解析の結果、FHL2は17例、FHL3は10例、FHL4は0例であった。その他の16例中4例が家族歴陽性または細胞傷害活性低下がありnon-FHL2/3/4と考えられ、12例は現時点において二次性も含めた原因不明のHLHと判断した。non-FHL2/3/4の4例中2例にSTXBP2遺伝子変異を認めFHL5と診断し、残り2例を未知の遺伝子変異によるFHLと診断した。FHL5と診断された2症例のSTXBP2遺伝子解析では、それぞれ①292-294delGCG/88-1g.a ②1243-1246delAGTG/1243-1246delAGTの変異が認められ、ウェスタンブロッティング法にてMunc18-2蛋白発現が欠損していることが確認された。FHL5と診断された2例のアロ抗原特異的CTLの細胞傷害活性と脱顆粒反応は著しく低下していた。責任遺伝子不明によるFHL(non-FHL2/3/4/5)2例のCTL細胞傷害活性、脱顆粒反応においてはそれぞれ異なった低下程度を示した。これらの症例の存在から未だ遺伝子異常の同定されていない2つのFHL亜型の存在が示唆された。

従来の臨床的FHL診断基準では二次性HLHを含んでしまう可能性が指摘されていた。そこで、FHLの真の発症頻度を明らかにするため、すでに遺伝子異常が明らかになった症例と①家族歴、②血族結婚、③CTL活性低下・欠損、のいずれかを満たす症例のみをFHLとした。その結果、FHL2が54%、FHL3が34%、FHL4は0%、FHL5が6%、non-FHL2/3/4/5が6%であった。顆粒放出解析ならびにCTL活性の結果からは未知の遺伝子異常によるFHLが存在する可能性が示唆された。

(10) 1985～2005年の57移植例(EBV-HLH 14,FHL 43[FHL2 12,FHL3 11])を検討した。
 EBV-HLH：3例が自家または双生児からSCTをうけ2例が生存。11例が同種SCTをうけ、6例が生着生存、3例が拒絶されたが2例は生存し1例が死亡。全生存率は86%。FHL：1例が自家SCT後中枢神経浸潤で死亡。42例が同種SCTをうけ、21例が生着しうち3例が死亡。6例は拒絶され、うち2例は2nd-SCT後生存し、3例が死亡。全生存率は67%。年齢と移植前多剤化学療法の使用例はEBV-HLH患者に高かった。中枢神経異常の頻度は移植前にEBV-HLHとFHLで差はなかったが、移植後はFHL患者で高かった。FHLの移植後10年全生存率は、移植源が血縁骨髄・末梢血で90%、非血縁臍帯血で67%、非血縁骨髄で58%。同種SCT後に死亡したFHL 13例の半分以上が100日以内の治療関連であった。HLHの全生存率は海外より高いが、FHLでは移植後早期死亡と神経学的後遺症が問題であった。T細胞型とNK細胞型のEBVリンパ増殖性疾患(LPD)患者の末梢血細胞を高純度に分画してEBV量とclonalityを解析した。主たる感染標的細胞以外にもEBV感染が確認されEBV-TRサイズからT/NK前駆細胞で感染が起こる可能性が示唆された。しかし骨髄CD34陽性造血前駆細胞はこの感染から免れていた。

(11) 日本におけるHLH 症例はデータセンターに登録され HLH-2004治療が行われている。月平均1, 2例のペースで2011年11月末までに87例が登録され治療を受けた。一方国際研究による集積では全生存率は69%で HLH-94 の63%より改善したが有意差はなかった。しかし移植前の死亡は18%で HLH-94 の27%を有意に上回った。移植後の予後に差はなかった。一方蛋白発現解析および CTL 活性解析にてス

クリーニングを行い HLH-2004 登録例 87 例では、PRF1 による FHL2 は 8 例、UNC13D による FHL3 は 5 例、STXPB2 による FHL5 と STX11 による FHL4 は 1 例もなかった。登録例の 80%が EBV による二次性 HLH であった。

HLH-2004 治療研究は2011年12月に終了し、現在次期治療研究について検討中である。候補としては ATG-based study、Campath-based study、VP16-based study などが検討されているが、各国の実情を考慮すると VP16-based study で二次性 HLH と FHL で治療層別化する方法が妥当と考えられている。

(12) 6 家系の患者で XIAP 変異が同定された。ナンセンス変異が 2 家系、小欠失によるフレームシフト変異が 2 家系、1 アミノ酸欠失が 1 家系、大欠失 (エキソン 1-2) が 1 家系であった (図 1)。

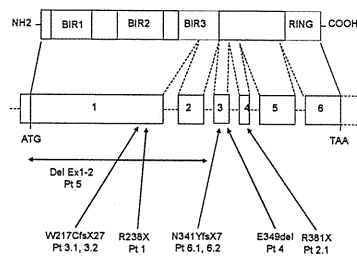


図1 わが国の XIAP 欠損症における XIAP 変異

家系 4、5 では XIAP 蛋白の発現が正常であったが、その他の家系では発現低下がみられた。

iNKT 細胞数は一部正常範囲を呈する患者もいたが、平均すると健常者に比べると有意に iNKT 細胞の減少を認めた。

アロ抗原特異的 CTL による細胞傷害活性は健常人と同程度であった (図 2)。

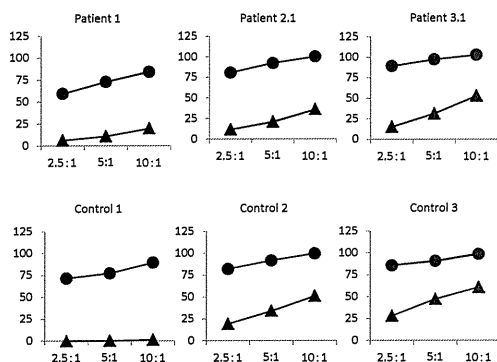


図2 アロ抗原特異的CTLによる細胞傷害活性

臨床像はHLHが6例(67%)でみられ、うち5例はHLHを反復し、EBV-HLHは4例で認められた。脾腫は半数で認められ、低ガンマグロブリン血症は2例のみであった。また出血性腸炎が2例で認められた。これらの臨床的特徴はこれまで報告されている欧米の報告とほぼ同様の特徴を有していた。

(13)2011年はHLH9例のPerforin蛋白発現から、2例をFHL2と診断した。日本人に多い変異 exon3 1090-91 delCT L362fs が両者にあり、1例は複合ヘテロ接合、もう1例はヘテロ変異のみで解析を継続中である。他はEBV-HLH、Coxsackievirus B1による新生児HLHなどの二次性で、不明の1家系を安友主任と解析中である。

2000年以降、前処置軽減非血縁臍帯血移植(RIC-UCBT)を受けたFHL13名の初回移植を検討した。診断年齢は中央値6か月で、診断から5か月後に移植をうけていた。3例が1か月までに発症、診断時中枢神経病は1例のみであった。移植前治療に半数がHLH2004を使用し、HLH病勢は制御されたが3例は中枢神経病をきたした。前処置は全身放射線照射(TBI; n=6, 2~4Gy)、シクロフォスファミド(CY; n=4, 50~120mg/kg)、ブスルファン(BU; n=2)、エトポシド(VP16; n=1)、メルファラン(Mel; n=11, 80~180 mg/m²)及びフルダラ

ビン(Flu; n=12, 120~180 mg/m²)であった。11名が生着し無病をえたが、混合キメラ2名のうち1名は生着不全となり再移植待ちである。1名が拒絶後再移植にて無病生存し、2例が死亡した。Flu+Mel+low dose TBI(n=6)では無病生着4、生着不全1、死亡1であった。一方、Flu+Mel+non-TBI(n=5)は無病生着2、生着不全2及び混合キメラ1であった。

2000年以降のEBV-HLHの治療反応性を解析した。HLH基準(ASH Ed Prog 2009:127)を満たすEBV量増加例を診断。免疫抑制調節療法(ITx)、VP16など化学療法(CTx)およびSCTを段階的に行った。22例(男9、女13)の年齢中央値は5歳(9か月~41歳)、EBV初感染19例、再活性化3例。16例中15例の感染標的はT細胞で、EBV DNAの中央値は1×10⁵ copies/mlであった。自然寛解が2例、ITxを20例がうけ12例が軽快。残り8例にVP16を中心とするCTxを施行し5例が軽快し1例が死亡。この死亡例は再活性化例であった。残りEBV再活性化2例もCTxで病勢を制御できずSCTを施行し1例が死亡。CTx群(n=8)と未施行群(n=14)を比較したとき、CTx群は治療前有熱期間が長く(p=0.006)、LDHが高く(p=0.028)、sIL-2Rが高かった(p=0.042)。多変量解析で長期発熱(p=0.017)、sIL-2R高値(p=0.017)がCTxの必要因子であった。

(14)血球貪食症候群臨床試験 HLH2004に係る検体の流れ

HLH2004では、家族性発症の血球貪食症候群を早期に同定し、それらに対しては造血幹細胞移植を含む強力な治療を行うことによって患者を救命することを目的としている。そこで家族性発症の疑いのある患者を早期に見つけ出すために、①キラー活性、②血球貪食症候群関連蛋白発現、および③EBウイルス感染検査、の3つを各々別々の施設で行っている(図1)。これらの検査で家族性発症の疑いが強くなった場合は、「先天性免疫不全症の原因遺伝子同定および

病態形成機序の解明」研究（富山大学・金兼弘和）の枠組みで、富山大学を經由してかずさDNA研究所に検体が送付され、血球貪食症候群の原因遺伝子として判明している *perforin*, *MUNC13-4*, *syntaxin11* の3遺伝子について変異の有無が検査される。その結果が HLH2004 試験グループに返却されて、どの治療を受けるのかを決める仕組みであることが判明した。なお、かずさ DNA 研究所に送付された検体は検査終了後に廃棄されることも判明した。

この体制の中で、キラー活性測定後の検体はサイトカイン依存性に増殖。維持できる細胞株であり、これらの保存・管理はいまだ国立成育医療研究センターは対応できない。そこで、蛋白発現および EB ウイルス検査の後に余剰となっている検体について、国立成育医療研究センターが継続して保存管理ができる体制を目指すことにした。

2) 国立成育医療研究センターにおける患者由来検体の保存体制整備

国立成育医療研究センターは JPLSG と連携して、臨床試験等における中央診断実施後の余剰検体を保存し、また、配分する検体センターの役割を担っている。JPLSG の方針として、保存した腫瘍検体についてはヒトゲノム・遺伝子解析研究は行わないことを原則としていたため、国立成育医療研究センター倫理委員会ですでに承認されている保存・分配計画にはヒトゲノム・遺伝子解析研究は一切含まれていない。この研究計画に HLH2004 試験に係る余剰検体の保存と分配を追加することは、ヒトゲノム・遺伝子解析研究としての審査を受けなおすことになる。そこで、既存の研究に新たな研究を追加するとともに、HLH2004 に係るヒトゲノム・遺伝子解析研究の計画書を別途添付する形で国立成育医療研究センター倫理委員会に申請し承認を受けた。

D. 考察

(1,2) 日本のFHL8家系を対象とした全ゲノムSNP連鎖解析ではLOD値が陽転化する領域を検出することができたが有意なLOD値を得ることができなかった。疾患遺伝子座の異質性が考えられ、より確実な解析を行うためにはさらなる家系の収集が必要であった。収集した家系のうち血族を有する1家系（FHL-102）を対象にホモ接合体マッピングを行った。既知の遺伝子座への連鎖を除外でき、3つの新規候補遺伝子座を同定し、この領域から1つの候補遺伝子変異を同定した。現在、この候補遺伝子の機能解析を行っている。また、血族を有するもう1家系（FHL-FKOK）の解析からも、FHL-102とは異なる候補領域を同定することができた。今後の解析から、FHL-102とは異なる新規候補遺伝子変異が検出される可能性がある。

(3) FHLが早期に診断され移植年齢が低下している。中枢神経病もなく、全身状態が保たれる例も少なくない。Flu+MelのみではUCBT後に生着不全の可能性が高いため、前処置には適切な強度が必要である。EBV-HLHの60%以上はVP16なしに寛解した。成人例と再活性化例が重症であった。初感染小児例は早期のITxが有用で、過剰なT細胞活性化を調節する可能性が示唆された。

(4) 2009年にドイツとフランスの研究グループにより中東地域のHLH発症家系から新たに *Munc18-2* (*STXBP2*) 異常によるFHL5が同定された。その中で最も多い変異であった1430C>Tを持つ患者の多くは出生後早期に発症し、一方プライミングサイトの変異を持つ患者では出生後数年で発症していた。今回、我々が2例の患者から同定した3種の *STXBP2* の変異はこれまで報告がなく、2例とも生後2か月で発症し症状の進行が速かった。今後、遺伝子変異と臨床経過との関係を解析するためにはさらにデータを蓄積して行く必要がある。*Munc13-4*, *Munc18-2*はT細胞とNK細胞の脱顆

粒機構において分子メカニズムが類似しており、それぞれSyntaxin11に結合する。Dockingの段階でMUNC18-2/Syntaxin11が複合体を形成し、続いてprimingの段階でMunc13-4がSyntaxin11と結合することが考えられている。今回の我々のデータにおいてFHL3とFHL5の細胞傷害活性と脱顆粒機構の傷害の程度は同程度であり、これらの分子メカニズムの考えを支持するものである。

(5) HLH-2004 治療研究は移植前の生存率の向上に有効であったが、全生存率の有意な向上は得られなかった。今後は移植も含めたさらなる治療成績の改善を目的として、新たな治療研究を行う必要がある。FHLの鑑別はCTL活性および蛋白発現解析のスクリーニングと遺伝子解析が順調に行われているが、遺伝子異常が同定されていない症例については新規遺伝子異常を同定する必要がある。

(6) HSCTの成績を向上させる目的のもと、GVHDとウイルス感染のコントロールに一定の示唆を得た意義は大きい。しかしHSCTにはそれ以外の様々な要因が絡んでいる。今後、実際のHSCTのデータを解析し、問題点を洗い出し、移植成績の更なる向上を目指す予定である。今回の系の確立にともない、CTLを容易に増幅できる可能性が示唆された。ウイルスに対するT細胞性免疫が体内で誘導できないような状況下において、CTLを対外で増幅し輸注するという、ウイルス感染への新たな対処法としての臨床応用の可能性が考えられた。

(7) XIAP欠損症ではXLPの臨床的特徴のひとつである悪性リンパ腫の発症が報告されていないが、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、本研究でも半数(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SAP欠損症と異なり、出血性腸炎の報告があるが、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。

(8) ヒトiPS細胞においてI型インターフェロンの発現が高頻度に検出される傾向が認められた。その上流にはdsDNAによるIRFの経路の活性化などが推定され、iPS細胞での現象としては興味深い。しかし、血球貪食との関係がどの程度同定できるかは今後の課題である。

(9) 2009年にドイツとフランスの研究グループにより中東地域のHLH発症家系から新たにMunc18-2(STXBP2)異常によるFHL5が同定された。その中で最も多い変異であった1430C>Tを持つ患者の多くは出生後早期に発症し、一方プライミングサイトの変異を持つ患者では出生後数年で発症していた。今回、我々が2例の患者から同定した3種のSTXBP2の変異はこれまで報告がなく、2例とも生後2か月で発症し症状の進行が速かった。今後、遺伝子変異と臨床経過との関係を解析するためにはさらにデータを蓄積して行く必要がある。

Munc13-4、Munc18-2はT細胞とNK細胞の脱顆粒機構において分子メカニズムが類似しており、それぞれSyntaxin11に結合する。Dockingの段階でMUNC18-2/Syntaxin11が複合体を形成し、続いてprimingの段階でMunc13-4がSyntaxin11と結合することが考えられている。今回の我々のデータにおいてFHL3とFHL5の

細胞傷害活性と脱顆粒機構の傷害の程度は同程度であり、これらの分子メカニズムの考えを支持するものである。

(10) FHL患者には中枢神経浸潤前の早期に適切な前処置による速やかなSCTが望まれる。日本の症例は骨髄非破壊的前処置が1/4と臍帯血移植が約半分に行われていたが、骨髄非破壊的前処置後臍帯血移植例は少なく臍帯血移植の時期と方法についてはさらに検討が必要である。造血前駆細胞におけるEBV感染様式の解析は、EBV-HLHの病態解明と治療応用につながる可能性がある。

(11)日本における HLH 症例はデータセンターに登録され HLH-2004 治療が行われている。月平均1, 2例のペースで2011年11月末までに87例が登録され治療を受けた。一方国際研究による集積では全生存率は69%でHLH-94の63%より改善したが有意差はなかった。しかし移植前の死亡は18%でHLH-94の27%を有意に上回った。移植後の予後に差はなかった。

一方蛋白発現解析および CTL 活性解析にてスクリーニングを行い HLH-2004 登録例87例では、PRF1によるFHL2は8例、UNC13DによるFHL3は5例、STXP2によるFHL5とSTX11によるFHL4は1例もなかった。登録例の80%がEBVによる二次性HLHであった。

HLH-2004 治療研究は2011年12月に終了し、現在次期治療研究について検討中である。候補としてはATG-based study、Campath-based study、VP16-based studyなどが検討されているが、各国の実情を考慮するとVP16-based studyで二次性HLHとFHLで治療層別化する方法が妥当と考えられている。

(12)XIAP欠損症ではSAP欠損症(XLPタイプ1)の臨床的3徴の一つである悪性リンパ腫が報告されていないが、本研究でも悪性リンパ腫の発症はなかった。XIAP欠損症では反復性HLHが特徴とされるが、本研究でも同様であり、必ずしもEBV関連ではなかった。脾腫もXIAP欠損症に特徴的とされるが、本研究では2例しか認められなかった。XIAP欠損症ではSAP欠損症と異なり、クローン病様の出血性腸炎の報告があるが、本研究でも2例で認められた。フローサイトメリーによるXIAP蛋白の発現は一部正常なものがあり、SAP欠損症におけるそれほどには有用ではないかもしれない。iNKT細胞数も平均すると患者では健常者に比べると有意に低下していたが、一部の患者では正常範囲であった。アロ抗原特異的CTLによる細胞傷害活性は健常人と同程度であり、家族性血球貪食症候群とは異なる病態が考えられる。

(13)FHLが早期に診断され移植年齢が低下している。中枢神経病もなく、全身状態が保たれる例も少なくない。Flu+MelのみではUCBT後に生着不全の可能性が高いため、前処置には適切な強度が必要である。

EBV-HLHの60%以上はVP16なしに寛解した。成人例と再活性化例が重症であった。初感染小児例は早期のITxが有用で、過剰なT細胞活性化を調節する可能性が示唆された。

(14)家族性に発症する血球貪食症候群は極めてまれであり、全国的な研究グループであるJPLSGと連携して患者を集積する必要がある。本研究もJPLSGが行う血球貪食症候群に対する臨床試験であるHLH2004の中で行われる検体保存と分配の仕組みを活用したものである。HLH2004は平成23年度に新規患者登録が終了したこともあって、中央診断のための検体の

動きを総括し、将来、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に使用できる形で保存することは重要である。

平成23年度は、HLH2004での検体の動きを図1のようにまとめて添付し、かつ、ヒトゲノム・遺伝子解析研究を新たに追加してJPLSGに係る余剰検体保存計画を国立成育医療研究センター倫理委員会で審査し承認を受けた。

今後は、国立成育医療研究センターに保存されている検体については、外部の研究者に分配できる基礎ができたと考えられる。現状では、JPLSGの研究活動で収集・保存された検体はJPLSGが所有するとの考えであるが、外部研究者への配分は、①JPLSG会員になり行う研究、②JPLSG会員と共同して行う研究、という枠組みで可能となっていることから、手続きは必要であるが門戸は開かれている。このような検体の保存と分配の機能を維持することにより血球貪食症候群をはじめとする成育難病の克服に活用されることを期待する。

E. 結論

FHLの原因遺伝子同定研究では、血族を有する家系を対象にしたホモ接合体マッピングでは、既知の遺伝子座への連鎖を除外でき、それぞれ新規候補遺伝子座を同定することができた。特に、一家系では新規の原因遺伝子の同定に成功した。本遺伝子は、これまで報告されている原因遺伝子とは全く別のシグナル伝達系に属することから、本研究から新しいFHLの発症機構の解明が期待できる。

FHLに対するRIC-UCBTと移植前治療の適正化のため、症例集積が必要である。中枢神経病の予防と治療に新たな対策が必要である。EBV-HLHに早期ITxは有用だが、予後因子はさらに検討が必要である。

F. 健康危険情報
特記すべき事無し。

G. 研究発表

1. 論文発表：

(1) Sugimoto 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* 184:4673-8 (2010)

(2) Nishimoto K, Kochi Y, Ikari K, Yamamoto K, Suzuki A, Shimane K, Nakamura Y, Yano K, Iikuni N, Tsukahara S, Kamatani N, Okamoto H, Kaneko H, Kawaguchi Y, Hara M, Toyama Y, Horiuchi T, Tao K, Yasutomo K, Hamada D, Yasui N, Inoue H, Itakura M, Yamanaka H, Momohara S. Association study of TRAF1-C5 polymorphisms with susceptibility to rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Japanese. *Ann Rheum Dis* 69:368-73 (2010)

(3) Sakata-Yanagimoto M, Sakai T, Miyake Y, Saito T, 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* 117:128-34 (2011)

(4) Nagai K, Ishii E, Yasukawa M, et al (2010) Subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes. *PLoS ONE* 5: e14173

(5) Ohga S, Ishii E, et al (2010) Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic

lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. *Pediatr Blood Cancer* 54: 299-306

(6) Morimoto A, Ishii E, et al (2010) Nationwide survey of single-system single site Langerhans cell histiocytosis in Japan. *Pediatr Blood Cancer* 54: 98-102

(7) Kudo K, Ishii E, et al (2010) Improved outcome of refractory Langerhans cell histiocytosis in children with hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *Bone Marrow Transplant* 45: 901-906

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

(9) Nagai K, Yasukawa M, et al. (2010) Subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes. *PLoS One* 5: e14173

(10) MacNamara A, Yasukawa M, et al. (2010) HLA class I binding of HBZ determines outcome in HTLV-1 infection. *PLoS Pathog* 6: e1001117, 2010.

(11) Lei, J., Yasukawa M, et al. (2010) Peroxisome proliferator-activated receptor α and β agonists together with TGF- β convert human CD4⁺CD25⁻ T cells into functional Foxp3⁺ regulatory T cells. *J Immunol* 185:7186-7198.

(12) Shultz L, Yasukawa M, et al. (2010) Generation of functional human T cells with HLA-restricted

immune responses in HLA-class I expressing NOD/SCID/IL2r^{null} humanized mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 13022-13027

(13) Yasukawa M, et al. (2010) Relapse of renal cell carcinoma with disappearance of HLA class I following hTERT peptide vaccination. *Ann Oncol* 21:2122-2124

(14) Yasukawa M, et al. (2010) Allo-HLA reactivity of leukemia-specific cytotoxic T lymphocytes. e-Letter. *Blood* Accessed April 19.

(15) Azuma T, Yasukawa M, et al. (2010) Derivative (1;18)(q10;q10) in essential thrombocythemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 199:62-64.

(16) Ohga S, Kudo K, Ishii E, Honjo S, Morimoto A, Osugi Y, Sawada A, Tabuchi T, Suzuki N, Ishida Y, Imashuku S, Kato S, Hara T: Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. *Pediatric Blood & Cancer* 54(2):299-306, 2010

(17) Lian, G., Arimochi, H., Kitamura, A., Nishida, J., Li, S., Kishihara, K., Maekawa, Y., and Yasutomo, K. Manipulation of CD98 resolves type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. *J Immunol*, 188: 2227-2234 (2012).

(18) Iwahashi, S., Maekawa, Y., Nishida, J., Ishifune, C., Kitamura, A., Arimochi, H., Kataoka, K., Chiba, S., Shimada, M., and Yasutomo, K. Notch2 regulates the development of marginal zone B cells through Fos. *Biochem Biophys Res Commun*, 418: 701-707 (2012).

- (19) Kitamura, A., Maekawa, Y., Uehara, H., Izumi, K., Kawachi, I., Nishizawa, M., Toyoshima, Y., Takahashi, H., Standley, D. M., Tanaka, K., Hamazaki, J., Murata, S., Obara, K., Toyoshima, I., and Yasutomo, K. A mutation in the immunoproteasome subunit PSMB8 causes autoinflammation and lipodystrophy in humans. *J Clin Invest*, 121: 4150-4160 (2011).
- (20) Ohga S, Ishimura M, Yoshimoto G, Miyamoto T, Takada H, Tanaka T, Ohshima K, Ogawa Y, Imadome K, Abe Y, Akashi K, Hara T: Clonal origin of Epstein-Barr virus (EBV)-infected T/NK-cell subpopulations in EBV-positive T/NK-cell lymphoproliferative disorders of childhood. *J Clin Virol* 51(1):31-7, 2011
- (21) Eljaafari FM, Takada H, Tanaka T, Doi T, Ohga S, Hara T: Potent induction of IFN- γ production from cord blood NK cells by the stimulation with single-strand RNA. *J Clin Immunol* 31(4):728-35, 2011
- (22) Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakagawa-Nakazawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S: CD4⁺T cells have a critical role in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. *PLOS Pathogen* Oct, 7, 2011
- (23) Asano T, Kogawa K, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Kudo K, Ohta S, Wakiguchi H, Tabuchi K, Kato S, Ishii E: Hemophagocytic lymphohistiocytosis after hematopoietic stem cell transplantation in children: a nationwide survey in Japan. *Pediatr Blood Cancer* Oct, 28, 2011
- (24) Shiraishi A, Ohga S, Doi T, Ishimura M, Takimoto T, Takada H, Miyamoto T, Abe Y, Hara T: Treatment choice of immunotherapy or further chemotherapy for Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* Dec, 19, 2011
- (25) Yamamura K, Ohga S, Nishiyama K, Doi T, Tsutsumi Y, Ikeda K, Fujishima A, Takada H, Hara T: Recurrent atrial fibrillation after high-dose methylprednisolone therapy in a girl with lupus-associated hemophagocytic syndrome. *Lupus* 20(8):871-5, 2011
- (26) Shiraishi A, Hoshina T, Ihara K, Doi T, Ohga S, Hara T: Acute liver failure as the initial manifestation of Wilson disease triggered by human parvovirus B19 infection. *Pediatr Infect Dis J* 31(1):103-4, 2012
- (27) Kitajima J, Inoue H, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Yoshida T, Kusuhara K, Hara T: Differential transmission and postnatal outcome in triplets with congenital cytomegalovirus infection. *Pediatr Development Pathol* Oct, 10, 2011
- (28) Nishi M, Nishimura R, Suzuki N, Sawada A, Okamura T, Fujita N, Kanai R, Yano J, Adachi S, Yasumi T, Sato E, Yasutomo K, Ishii E, Ohga S: Reduced-intensity conditioning in unrelated donor cord blood transplantation for patients with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol* 2012 (in press)
- (29) 大賀正一: リンパ増殖性疾患と難治性 EB

- ウイルス関連疾患 造血障害の研究・教育
交流拠点の形成とアジア血液学の創出
Establishment of a collaborative research and
education center for hematological disorders in
Asia. JSPS Asian Core Program 2006-2010.
The JSPS-NRCT Hematology Workshop in
Asia. pp. 10-14, 2011
- (30) 土居岳彦、大賀正一：血球貪食症候群の発
症機構に迫る 4. EBV 関連血球貪食症候群
医学のあゆみ 238 巻 11 号 1053-7, 2011
- (31) 大賀正一：血球貪食症候群の病態と治療
update
- (32) 遺伝性血球貪食症候群の発症機序 血液内
科 63 巻 5 号 640-3, 2011
- (33) Nagai K, Yamamoto K, Fujiwara H, An J, Ochi
T, Suemori K, Yasumi T, Tauchi H, Koh K, Sato
M, Morimoto A, Heike T, Ishii E, Yasukawa M
(2010) Subtypes of familial hemophagocytic
lymphohistiocytosis in Japan based on genetic
and functional analyses of cytotoxic T
lymphocytes. PLoS ONE 5: e14173
- (34) Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R, Honda
T, Ishii E, Koike K (2011) Detection of T-cell
receptor gene rearrangement in children with
pstein-Barr virus-associated hemophagocytic
lymphohistiocytosis using the IOMED-2
multiplex polymerase chain reaction combined
with GeneScan analysis. Clin Chim Acta 412:
1554-1558
- (35) Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K,
Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K,
Saito M, Nishikomori R, Ohara O, Ishii E,
Nakahata T, Horiuchi H, Heike T (2011) Rapid
diagnosis of familial hemophagocytic
lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) by flow
cytometric detection of intraplatelet Munc13-4
protein. Blood 118: 1225-1230
- (36) Yanagimachi M, Goto H, Miyamae T, Kadota K,
Imagawa T, Mori M, Sato H, Yanagisawa R,
Kaneko T, Morita S, Ishii E, Yokota S (2011)
Association of *IRF5* polymorphisms with
susceptibility to hemophagocytic
lymphohistiocytosis in children. J Clin Immunol
31: 946-951
- (37) Yang X, Kanegane H, Nishida N, Imamura T,
Hamamoto K, Miyashita R, Imai K, Nonoyama
S, Sanayama K, Yamaide A, Kato F, Nagai K,
Ishii E, van Zelm MC, Latour S, Zhao X-D,
Miyawaki T (2012) Clinical and genetic
characteristics of XIAP deficiency in Japan. J
Clin Immunol (in press)
- (38) Kanegane H, Yang X, Zhao M, Yamato K,
Inoue M, Hamamoto K, Kobayashi C, Hosono
A, Ito Y, Nakazawa Y, Terui K, Kogawa K, Ishii
E, Sumazaki R, Miyawaki T (2012) Clinical
features and outcome of X-linked
lymphoproliferative syndrome type 1 (SAP
deficiency) in Japan identified by the
combination of flow cytometric assay and
genetic analysis. Pediatr Allergy Immunol (in
press)
- (39) Shikata H, Yasukawa M, et al. (2012) The role
of activation-induced cytidine deaminase
(AID/AICDA) in the progression of follicular
lymphoma. *Cancer Sci.* 103:415-421.

- (40) Nagai K, Ishii E, Yasukawa M, et al. (2012) Aurora kinase A-specific T-cell receptor gene transfer redirects T-lymphocytes to display effective anti-leukemia reactivity. *Blood* 119:368-376.
- (41) Hasegawa H, Yasukawa M, et al. (2011) Lysophosphatidylcholine enhances the suppressive function of human naturally occurring regulatory T cells through TGF- β production. *Biochem Biophys Res Commun.* 415:526-531.
- (42) Ochi T, Yasukawa M, et al (2011) Novel adoptive T-cell immunotherapy using a WT1-specific TCR vector encoding silencers for endogenous TCRs shows marked anti-leukemia reactivity and safety. *Blood* 118:1495-1503.
- (43) Takahara A, Yasukawa M, et al. (2011) Gemcitabine enhances Wilms' tumor gene WT1 expression and sensitizes human pancreatic cancer cells with WT1-specific T-cell-mediated antitumor immune response. *Cancer Immunol. Immunother.* 60:1289-1297.
- (44) Yasukawa M, et al. (2011) Adoptive T-cell immunotherapy using T-cell receptor gene transfer: aiming at a cure for cancer. *Immunotherapy* 3:135-140.
- (45) An J, Yasukawa M, et al. (2011) Activation of T-cell receptor signaling in peripheral T-cell lymphoma cells plays an important role in the development of lymphoma-associated hemophagocytosis. *Int. J. Hematol.* 93:176-185.
- (46) 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.
- (47) 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,
- (48) 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.
- (49) Yang X, Kanegane H, et al. Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol* 2012 Jan 8. [Epub ahead of print]
- (50) Yang X, Kanegane H. et al. Characterization of Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in two patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and type 2. *Herpesviridae.* 2012 3(1):1.
- (51) Kanegane H, et al. Clinical features and outcome of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (SAP deficiency) in Japan identified by the combination of flow cytometric assay and genetic analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 2012 Mar 21. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

(1) 1. 四国4大学皮膚科研究会

招待講演 安友康二、炎症応答の分子基盤 (2010年7月16日、徳島)

(2) Ohga S: Congenital protein C deficiency in the Japanese experience. The 7th Congress of ASPR, Hematology Session “Thrombosis in Children in the West and East” Pediatric Academic Societies (PAS) and Asian Society for Pediatric Research (ASPR) 2011 Joint Meeting, April 30-May 3, 2011 Denver, Colorado, USA (invited speaker)

(3) 大賀正一：血球貪食症候群に対する治療戦略 第62回 日本小児科学会佐賀地方会 特別講演 2011.12.3 佐賀

(4) 大賀正一、石村匡崇、土居岳彦、瀧本智仁、高田英俊、原寿郎：慢性活動性EBウイルス感染症におけるEBV感染T/NK細胞クローンの起源。第114回日本小児科学会 2011.8.12-14 東京

(5) Ishimura M, Mizuno Y, Takada H, Doi T, Ohga S, Hara T: Diagnostic usefulness of the expression levels of interferon-stimulated genes in histiocytic necrotizing lymphadenitis. 第40回日本免疫学会 2011.11.27-29 千葉

(6) Ohga S, Nishi M, Nishimura R, Suzuki N, Okamura T, Yano J, Adachi S, Sato E, Kanai R, Sawada A, Ishii E: Unrelated cord Blood Transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL). 第73回日本血液学会 2011.10.14-16 名古屋

(7) Shiraiishi A, Doi T, Ohga S, Ishimura M, Takimoto T, Takada H, Miyamoto T, Abe Y, Hara T: Treatment outcomes of EB virus-associated hemophagocytic

lymphohistiocytosis in a single institution. 第73回日本血液学会 2011.10.14-16 名古屋

(8) Nakazawa Y, Matsuda K, Yanagisawa R, Ishii E (2011) Monitoring of T-cell receptor gene rearrangement in children treated with HLH-2004 for Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. 27th Annual Meeting of Histiocyte Society, October, Vienna, Austria,

(9) Miyazaki Y, Yasukawa M, et al. (2011) Human Telomerase Reverse Transcriptase-Specific T-Cell Receptor Gene Transfer Redirects T-Lymphocytes to Exert Effective Antitumor Reactivity Against Adult T-Cell Leukemia. 53rd Annual Meeting of American Society of Hematology. 2011, 12, 12, San Diego, U.S.A.

(10) Asai A, Yasukawa M, et al. (2011) Forced Expression of CC Chemokine Receptor 2 Enhances Anti-Cancer Reactivity Mediated by T Lymphocytes Beforehand Redirected Toward WT1 Inside the Tumor Microenvironment. 53rd Annual Meeting of American Society of Hematology, 2011, 12, 10, San Diego, U.S.A.

(11) Ochi T, Yasukawa M, et al. (2011) Redirected CD4⁺ T Cells Using WT1-Specific *T-Cell Receptor* Gene Transfer Can Supply Multifactorial Help to Enhance the Anti-Leukemia Reactivity Mediated by Similarly Redirected CD8⁺ T Cells Using the Identical Gene Transfer. 53rd Annual Meeting of American Society of Hematology. 2011, 12, 12. San Diego, U.S.A.

(12) Kanegane H. SAP and XIAP deficiency in hemophagocytic lymphohistiocytosis. The 3rd Symposium for PID in Asia. May 1, 2011. Denver,