

5.3%/5.3%, B 14.3% /57.1%, C: 27.1%/63.5%, D: 33.3%/83.3% であった。D 群では 2 例が骨髄移植（造血細胞移植）を行い、1 例がカリニ肺炎で死亡しており、早期の根治療法の検討が必要であると考えられた。

以上の結果より、TREC, sjKREC を用いた CVID の亜群分類は、予後を知る上でも有用であり、早期に B, C, D 群であることがわかった場合、積極的に根治療法である骨髄移植（造血細胞移植）の検討を行うべきだと考えられた。

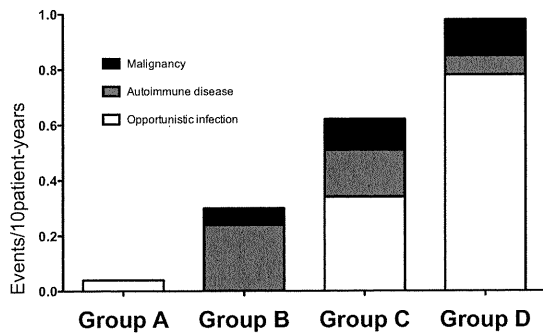


図2: CVID 亜群分類と合併症の頻度の相関

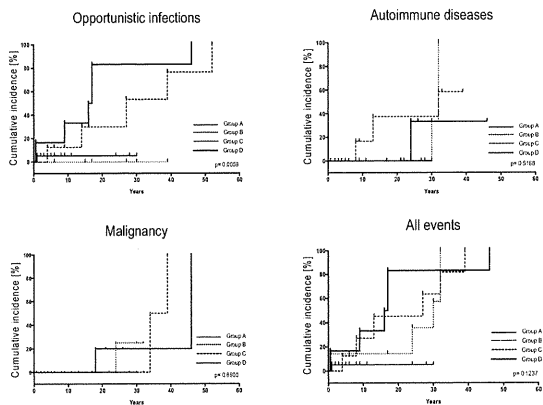


図3: CVID 亜群分類と合併症の頻度の経時的な検討

3) 近親婚患者での次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析

A 群の一例 (1984FM001)、および D 群の一例 (MA539M) が近親婚家系であること

が明らかになったため、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 部分を濃縮する遺伝子チップを作成し、次世代シーケンサー (Roche 454) にてシーケンスを行った。

1984FM001 については、ホモの領域が約 400Mbp となり、861 遺伝子が含まれ、エクソン周辺領域は約 5.45Mbp となった。その中で、ホモの変異がある遺伝子は 36 個であり (dbSNP に掲載されているものを除く)、その変異部位に関しては、キャピラリーシーケンサー (ABI 3700) でダイレクトシーケンスを行った。さらに両親、非罹患同胞の DNA を解析することで、9 遺伝子に絞ることができた。

現在、この 9 つの遺伝子を病原遺伝子と考え、解析中である。

MA539M については、同様の手法で 8 親等婚であったため、4 遺伝子まで絞ることができ、現在解析中である。

また、両者で見られた候補遺伝子については、各群の患者でシーケンスを開始している。

D. 考察

今回の研究で、CVID が 4 群に分かれ、臨床症状、特に合併症との相関が見られることが明らかになった。さらに、近親婚家系患者の解析から、候補となる変異遺伝子を絞ることが可能になった。候補遺伝子を考える上でも、A 群については、V(D)J 再構成に異常がなく、T 細胞、B 細胞の新生能に影響のないと考えられる遺伝子、D 群の患者については、T、B 細胞新生能あるいは、DNA 二重鎖切断修復に関わる遺伝子に注目することで、解析のスピードを上げることが可能になった。また、各亜群に属する患者について、優先して候補遺伝子解析を行うことが可能になった点でも有益であると考えられる。

E. 結論

国内 40 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、合併症との相関について検討した。D 群では、合併症頻度が有意に高く、早期に発症するため、早期の根治治療（造血細胞移植）介入により、予後の改善を図ることが可能であると考えられた。また、TREC、sjKREC を用いた CVID の亜分類により、希少な近親婚患者から得られた候補遺伝子解析を他の患者に対して効率よく探索することが可能であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakagawa N, **Imai K**, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, Okada S, Kobayashi M, Agematsu K, Takada H, Mitsui N, Oshima K, Ohara O, Suri D, Rawat A, Singh S, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Reichenbach J, Seger R, Ariga T, Hara T, Miyawaki T, Nonoyama S. Quantification of kappa-deleting recombination excision 1 circles in Guthrie 2 cards for the identification of early B-cell maturation defects. *J Allergy Clin Immunol*. **128**:223–225.e2. 2011.
2. Y. Okura, M. Yamada, I. Kobayashi, I. Santisteban, G. Arredondo-Santisteban, Z. Kato, A. Iguchi, M. Yoshida, O. Ohara, N. Nakagawa, **K. Imai**, M.S. Hershfield, T. Ariga, ADA-SCID with 'WAZA-ARI' mutations that synergistically abolished ADA protein stability, *Br J Haematol*. **153**: 675–676,2011.
3. E. Asai, T. Wada, Y. Sakakibara, A. Toga, T. Toma, T. Shimizu, S. Nampoothiri, **K. Imai**, S. Nonoyama, T. Morio, H. Muramatsu, Y. Kamachi, O. Ohara, A. Yachie, ADA-SCID with 'WAZA-ARI' mutations that synergistically abolished ADA protein stability, Br J Haemaent patients, *Clin Immunol*. **138**: 172-177,2011.
4. Zhao M, Kanegane H, Kobayashi C, Nakazawa Y, Ishii E, Kasai M, Terui K, Gocho 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 B Clin Cytom*. **80**: 8-13,2011.
5. 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, and Miyawaki T. Clinical and Genetic Characteristics of XIAP Deficiency in Japan. *J Clin Immunol*. 2012.

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タイプ1(SAP欠損症)
における低ガンマグロブリン血症

研究分担者 金兼 弘和 富山大学附属病院小児科 講師

研究要旨：

X連鎖リンパ増殖症候群(X-linked lymphoproliferative syndrome: XLP)は稀な原発性免疫不全症であり、60%が致死性伝染性単核症、30%が悪性リンパ腫、30%が低ガンマグロブリン血症を呈する。原因遺伝子は80%がSH2D1A、20%がXIAPであり、それぞれタイプ1、タイプ2と区別される。本研究ではわが国のXLP-1における低ガンマグロブリン血症について解析した。わが国の33例のXLP-1のうち低ガンマグロブリン血症を呈したのは12例(36%)であり、低ガンマグロブリン血症単独例は5例(15%)であった。急性EBウイルス感染症(伝染性単核症)に罹患後に低ガンマグロブリン血症となることがほとんどであるが、EBウイルス感染の既往が明らかでない場合もあるので、分類不能型免疫不全症との鑑別が問題となることもある。

A. 研究目的

X連鎖リンパ増殖症候群(X-linked lymphoproliferative syndrome: XLP)はEBウイルスに対する特異的免疫応答の欠陥を有する稀な先天性免疫不全症である。その原因遺伝子は80%がSAPをコードするSH2D1A、20%がXIAPをコードするXIAP/BIRC4であり、それぞれがXLPタイプ1(XLP-1)ならびにタイプ2(XLP-2)と称される。XLP-1における臨床表現型は60%が致死性伝染性単核症あるいは重症EBウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症、30%がリンパ増殖症、30%が異常(低)ガンマグロブリン血症と報告されている。今回、わが国で同定されたXLP-1における低ガンマグロブリン血症の頻度と予後を明らかとすることを本研究の目的とする。

(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

臨床症状からXLPが疑われた患者、家族から文書による同意を得たのちに静脈血を採取し、当教室まで送付してもらい、フローサイトメトリーによる細胞内SAP蛋白の発現ならびにSH2D1A遺伝子解析を行った。SAP蛋白の欠損ならびにSH2D1A遺伝子変異によってXLP-1と診断された患者の臨床情報を主治医から得た。

C. 研究結果

2011年末までにわが国で21家系33例のXLP-1が同定された(表1)。そのうち致死性伝染性単核症あるいは血球貪食性リンパ組織球症が18例(55%)、悪性リンパ腫を含むリンパ増殖症が7例(21%)、低ガンマグロブリン血症が12例(36%)であり、重複例も少なからず認められた。低ガンマグロブリン血症単独例は5例(15%)のみであった。

表1 XLP-1患者における各臨床表現型の発症率

臨床表現型	本研究	Seemayerら	Boothら
症例数	33例	272例	91例
致死性伝染性単核症 ・血球貪食症候群	18(55%)	157(58%)	35.2%
悪性リンパ腫 ・リンパ増殖症	7(21%)	82(30%)	24.2%
低ガンマグロブリン血症	12(36%)	84(31%)	50.5%

D. 考察

XLP では致死性伝染性単核症や悪性リンパ腫ばかりに注目されがちであるが、低ガンマグロブリン血症も30%以上に認められ、忘れてはならない特徴である。特に低ガンマグロブリン血症のみで気づかれる症例も15%存在し、分類不能型免疫不全症との鑑別が問題となる。急性EBウイルス感染症(伝染性単核症)に罹患後、徐々に低ガンマグロブリン血症となる症例が多いが、EBウイルス感染の既往がはっきりしない症例もあるので、診断に留意する。

E. 結論

欧米との報告と同じく、XLP-1の約30%は低ガンマグロブリン血症を呈することが明らかとなった。他の臨床表現型と重複する場合もあるが、低ガンマグロブリン血症のみにて発症する症例もあるので、分類不能型免疫不全症における鑑別診断として重要と思われる。その際にはEBウイルス感染の既往が診断のポイントとなることがあるので、詳細な病歴聴取を心がけたい。

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, Gocho 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 B Clin Cytom.* 80:8-13, 2011.

2. Booth C, Gilmour KC, Veys P, Gennery AR, Slatter MA, Chapel H, Heath PT, Steward CG, Smith O, O'Meara A, Kerrigan H, Mahlaoui N, Cavazzana-Calvo M, Fischer A, Moshous D, Blanche S, Pachlopnik-Schmid J, Latour S, de Saint-Basile G, Albert M, Notheis G, Rieber N, Strahm B, Ritterbusch H, Lankester A, Hartwig NG, Meyts I, Plebani A, Soresina A, Finocchi A, Pignata C, Cirillo E, Bonanomi S, Peters C, Kalwak K, Pasic S, Sedlacek P, Jazbec J, **Kanegane H**, Nichols KE, Hanson IC, Kapoor N, Haddad E, Cowan M, Choo S, Smart J, Arkwright PD, Gaspar HB. 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.
3. Pachlopnik Schmid J, Canioni D, Moshous D, Touzot F, Mahlaoui N, Hauck F, **Kanegane H**, Lopez Granados E, Mejstrikova E, Pellier I, Galicier L, Galambrun C, Barlogis V, Bordigoni P, Fourmaintraux A, Hamidou M, Dabadie A, Le Deist F, Haerynck F, Ouachée-Chardin M, Rohrlich P, Stephan JL, Lenoir C, Rigaud S, Lambert N, Milili M, Schiff C, Chapel H, Picard C, de Saint Basile G, Blanche S, Fischer A, Latour S. 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.
4. Yang X, Wang J, An YF, **Kanegane H**, Miyawaki T, Zhao XD. Genetic and proteomic analysis of a Chinese boy with X-linked lymphoproliferative disease and his maternal relatives. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 49:416-20, 2011. (in Chinese)
 5. Ishimura M, Takada H, Doi T, Imai K, Sasahara Y, **Kanegane H**, Nishikomori R, Morio T, Heike T, Kobayashi M, Ariga T, Tsuchiya S, Nonoyama S, Miyawaki T, Hara T. Nationwide Survey of Patients with Primary Immunodeficiency Diseases in Japan. *J Clin Immunol*. 31:968-76, 2011.
 6. Yang X, **Kanegane H**, Nishida N, Imamura T, Hamamoto K, Miyashita R, Imai K, Nonoyama S, Sanayama K, Yamaide A, Kato K, Nagai K, Ishii E, van Zelm MC, Latour S, Zhao XD, Miyawaki T. Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol*. (in press).
 7. **金兼弘和** : X連鎖リンパ増殖症候群—SAP欠損症とXIAP欠損症。 *医学のあゆみ* 238: 1058-64, 2011.
2. 学会発表
 1. **Kanegane H**. SAP and XIAP deficiency in hemophagocytic lymphohistiocytosis. *The 3rd Symposium for PID in Asia*. May 1, 2011. Denver, Colorado, USA.

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

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。

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

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 (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	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、可能であれば自己抗体を測定。

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。それら患者群の各種シトルリン化自己抗体に関して、検討を考えている。

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。

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 and Sumida T :

- Comparative suppressive effect in models of autoimmune arthritis by tyrosine kinase inhibitors imatinib and nilotinib. *Mod. Rheumatol* **21**, 267-275, 2011.
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 and Tsuchiya N: Association of a functional polymorphism in the 3' untranslated region of SPI1 with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **63**, 755-763, 2011.
 3. Kawasaki A, Furukawa H, Kondo Y, Ito S, Hayashi T, Kusaoi M, **Matsumoto I**, Tohma S, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T and Tsuchiya N: Toll-like receptor 7(TLR7) SNPs in the 3' untranslated region and intron additively contribute to susceptibility to systemic lupus erythematosus in a Japanese female population. *Arthritis Res. Ther.* **13**, R41, 2011.
 4. Yoshiga Y, Goto D, Segawa S, Horikoshi M, Hayashi T, **Matsumoto I**, Ito S, Taniguchi S and Sumida T: Activation of natural killer T cells by α -carba-GalCer (RCAI-56), a novel synthetic glycolipid ligand, suppresses murine collagen-induced arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* **164**, 236-247, 2011.
 5. 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. *Int J Rheum Dis.* **14**:86-91, 2011.
 6. Tanaka Y, **Matsumoto I**, Iwanami K, Inoue A, Minami R, Umeda N, Kanamori A, Ochiai N, Miyazawa K, Sugihara M, Hayashi T, Goto D, Ito S and Sumida T : Six-transmembrane epithelial antigen of prostate4(STEAP4) is TNF α -induced protein that regulates IL-6, IL-8, and cell proliferation in synovium from patients with rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol* (in press)
 7. Koga M, Kawasaki A, Ito I, Furuya T, Ohashi J, Kyogoku C, Ito S, Hayashi T, **Matsumoto I**, Kusaoi M, Takasaki Y, Hashimoto H, Sumida T and Tsuchiya N: Cumulative Association of Eight Susceptibility Genes with Systemic Lupus Erythematosus in a Japanese Female Population. *J Hum Genet* **56** :503-507, 2011.
 8. Segawa S, Goto D, Yoshiga Y, Horikoshi M, Sugihara M, Hayashi T, Chino Y, **Matsumoto I**, Ito S and Sumida T: NK1.1+ gdT cells attenuates IL-18 plus IL-2-induced murine interstitial lung disease. *Am. J. Res. Cell. Mol. Biol.* (in press)
 9. Kondo Y, Iizuka M, Wakamatsu E, Yao Z, Tahara M, Tsuboi H, Sugihara M, Hayashi T, Yoh K, Takahiashi S, **Matsumoto I**, and Sumida T: Overexpression of T-bet gene regulates murine autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum.* (in press)

10. Tsuboi H, Nakamura Y, Iizuka M, Matsuo N, **Matsumoto I**, Sumida T: Generation and functional analysis of monoclonal antibodies against the second extracellular loop of human M3 muscarinic acetylcholine receptor. *Mod. Rheumatol.* (in press).
11. Tanaka Y, **Matsumoto I**, Iwanami K, Inoue A, Umeda N, Tanaka Y, Sugihara M, Hayashi T, Ito S, Sumida T: Six-transmembrane epithelial antigen of prostate4(STEAP4) is expressed on monocytes/neutrophils, and is regulated by TNF antagonist in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol.* (in press)
- 著書**
1. **松本功**: 薫風吹く膠原病診療—臨床を駆ける進歩の風—シェーグレン症候群 内科 107:595-598,2011.
2. **松本功**: 関節リウマチにおける自己抗体の病態への関与 リウマチ科 45: 215-218, 2011.
3. 井上明日香、**松本功**、住田孝之: TIARPによる炎症性サイトカインの産生抑制 臨床免疫・アレルギー科 55: ,2011.
4. **松本功**: K/BxN マウス-血清移入関節炎- Clinical Calcium 21: 261-266, 2011.
5. **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 48:199-202, 2011.
6. **松本功**: 生物学的製剤の副作用: Cochrane データベースより RA trends 3:8-9, 2011.
7. **松本功**: 関節リウマチにおける Th17 細胞の意義 リウマチ科 46: 102-108, 2011.
8. **松本功**、岩波慶一、田中陽子、井上明日香、田中勇希、梅田直人、住田孝之: 糖系酵素に対する自己免疫応答と関節リウマチ 日本臨床免疫学会雑誌 in press
9. **松本功** トップランナーに聞く 関節リウマチの発症メカニズム解明とその制御機構を追い求めて 131: 2575-2579,2011 最新医学
10. **松本功** 関節リウマチにおける Th17 細胞と抗 IL-17, 23 抗体療法 最新医学社 in press
11. **松本功** 関節リウマチ診療 update IL-17 阻害は有効か? 内科 南江堂 in press
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許
2011-094835 号 “環状シトルリン化グルコース-6-リン酸イソメラーゼペプチドおよび関節リウマチ症診断方法”

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：

全国アンケート調査から、成人分類不能型免疫不全症の患者の小児科からの内科への転科は進んでいない実態が明らかとなった。アンケート調査および当科における診療経験において、成人の原発性免疫不全症患者では、感染症、自己免疫疾患や悪性腫瘍、また他の合併症のため、病像が複雑となりやすく、総合的な診療を要することが示された。文献考察を含めて、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

CVIDに関する全国調査（日本血液学会、日本感染症学会、日本リウマチ学会教育研修施設1159診療科へのアンケート一次調査→43診療科33施設からのCVID患者情報の収集）、当院での自験例、pubmed文献検索により、問題点を明らかとした。

C. 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、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

阪大病院免疫アレルギー内科では、伴性無ガンマグロブリン血症(XLA)3例、CVID1例、高IgM症候群(HIM)1例、IgA欠損症1例通院中であった。XLAの1例は、多発性関節炎を合併し、ステロイド剤、抗リウマチ剤、免疫抑制剤、生物学的製剤の治療に抵抗し、また原因不明の高アンモニア血

症を合併し、内科、小児科、整形外科、消化器外科による集中治療を要した。また他1例では、壊疽性膿皮症とともに血小板低下を合併し、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。小児科から転科のHIM例においても、多関節型若年性特発性関節炎を合併しており、ガンマグロブリンの補充とともに、ステロイド剤、ブレディニンとネオオーラルの加療を要している。以上の経験で、原発性免疫不全患者の診療には、小児科と内科の連携が必須であり、また合併症により、専門家により構成される医療チームによる診療が必要なことを痛感した。

D. 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、希少性疾患であることより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。CVIDを含め成人原発性免疫不全患者では、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。

E. 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。

F. 研究発表

1. 論文発表
 1. **T. Tanaka**, T. Hirano, M. Kawai, J. Arimitsu, K. Hagihara, M. Ogawa, Y. Kuwahara, Y. Shima, M. Narazaki, A. Ogata, I. Kawase. Flavonoids, natural inhibitors of basophil activation. *Basophil Granulocytes* edited by Paul K. Vellis (In: *Cell Biology Research Progress*). **Nova Science Publishers. Inc. Chapter 4.** 61-72, 2011.
 2. A. Ogata, A. Morishima, T. Hirano, Y. Hishitani, K. Hagihara, Y. Shima, M. Narazaki, **T. Tanaka**. Improvement of HbA1c during treatment with humanised anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab. **Ann Rheum Dis** 2011, **70**:1164-1165.
 3. S. Nishida, T. Kawasaki, H. Kashiwagi, A. Morishima, Y. Hishitani, M. Kawai, T. Hirano, T. Ishii, K. Hagihara, Y. Shima, M. Narazaki, A. Ogata, Y. Oka, T. Kishimoto, **T. Tanaka**. Successful

- treatment of acquired hemophilia A, complicated by chronic GVHD, with tocilizumab. *Mod Rheumatol*. 2011, **21**:420-422.
4. Y. Shima, T. Tomita, T. Ishii, A. Morishima, Y. Maeda, A. Ogata, T. Kishimoto, **T. Tanaka**. Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, ameliorated clinical symptoms and MRI findings of a patient with ankylosing spondylitis. *Mod Rheumatol*. 2011, **21**:436-439.
 5. M. Narazaki, K. Hagihara, Y. Shima, A. Ogata, T. Kishimoto, **T. Tanaka**. Therapeutic effect of tocilizumab on two patients with polymyositis. *Rheumatology* (Oxford). 2011, **50**:1344-1346.
 6. **T. Tanaka**, M. Narazaki, T. Kishimoto. Anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab, for the treatment of autoimmune diseases. *FEBS Lett*. 2011, **585**:3699-3709.
 7. **T. Tanaka**, K. Hagihara, Y. Shima, M. Narazaki, A. Ogata, A. Kumanogoh. Tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, for the treatment of autoimmune disorders. *Drug Develop Res*. 2011, **72**:717-732.
 8. T. Hirano, N. Ohguro, S. Hohki, K. Hagihara, Y. Shima, M. Narazaki, A. Ogata, K. Yoshizaki, A. Kumanogoh, T. Kishimoto, **T. Tanaka**. A case of Behcet's disease treated with a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab. *Mod Rheumatol*. 2011 July 7. [Epub ahead of print]
 9. **T. Tanaka**, K. Hagihara, Y. Hishitani, A. Ogata. Tocilizumab for the treatment of AA amyloidosis. Amyloidosis-An insight to disease of systems and novel therapies edited by Isil Adadan Guvenc. Chapter 11 pp155-170. *INTECH Open Access Publisher. Croatia*.
 10. A. Ogata, N. Umegaki, I. Katayama, A. Kumanogoh, **T. Tanaka**. Psoriatic arthritis in two patients with an inadequate response to treatment with tocilizumab. *Joint Bone Spine*. 2011 Sep 29. [Epub ahead of print]
 11. S. Kitaba, H. Murota, M. Terao, H. Azukizawa, F. Terabe, Y. Shima, M. Fujimoto, **T. Tanaka**, T. Naka, T. Kishimoto, I. Katayama. Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma. *Am J Pathol*. 2012, **180**:165-176.
 12. **T. Tanaka**, T. Kishimoto. Immunotherapeutic implication of IL-6 blockade. *Immunotherapy*. 2012, **4**:87-105.
 13. **T. Tanaka**, T. Kishimoto. Immunotherapy of tocilizumab for rheumatoid arthritis. *J Clin Cell Immunol*. 2011, **S6**:001.
 14. **T. Tanaka**, M. Narazaki, T. Kishimoto. Therapeutic targeting of the interleukin-6 receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2012, **52**:199-219.

15. A. Ogata, **T. Tanaka**. Tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis and other systemic autoimmune diseases: current perspectives and future directions. *Int J Rheumatol*. In press.
16. Y. Katada, **T. Tanaka**. Raynaud's phenomenon affecting the tongue. *N Engl J Med*. In press.
2. 学会発表
1. Morishima A, Ogata A, Hirano T, Hishitani Y, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, **Tanaka T**, Kumanogoh A. Decreased HbA1C during humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, tocilizumab in rheumatoid arthritis with diabetes. **EULAR (The European League Against Rheumatism) meeting 2011**, 25-28 May, London, UK.
2. 萩原圭祐、森島淳仁、菱谷好洋、河合麻理、有光潤介、平野亨、嶋良仁、榑崎雅司、緒方篤、**田中敏郎** Taqman array による TCZ 治療患者の病態解析：Fox-P3 と CTLA-4 は治療後の MMP-3 と相関する 第 5 5 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2011, 7 神戸
3. 榑崎雅司、菱谷好洋、森島淳仁、河合麻理、平野亨、萩原圭祐、嶋良仁、緒方篤、**田中敏郎** トシリズマブにより軽快した難治性多発性筋炎の 2 症例 第 5 5 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2011, 7 神戸
4. 有光潤介、萩原圭祐、緒方篤、河合麻理、菱谷好洋、平野亨、嶋良仁、榑崎雅司、**田中敏郎** NSAIDs 服用関節リウマチ患者におけるセレコキシブ切り替えによる小腸粘膜障害の検討 第 5 5 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2011, 7 神戸
5. 萩原圭祐、森島淳仁、菱谷好洋、河合麻理、有光潤介、平野亨、嶋良仁、榑崎雅司、緒方篤、**田中敏郎** トシリズマブ治療継続中の Castleman 病患者に合併した IgG4 関連疾患の一例 第 5 5 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2011, 7 神戸
6. **田中敏郎** RA 以外の疾患に対する IL-6 阻害療法 日本臨床免疫学会会誌 2011;34:271.
7. Hishitani Y, Hirano T, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, **Tanaka T**, Kumanogoh A. Long-term tolerability of tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis. **ACR/ARHP 11 Scientific Meeting**. November 5-9, 2011, Chicago.
8. **Tanaka T**, Kawai M, Hirano T, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, Kumanogoh A. Effect of enzymatically isoquercitrin, a flavonoid, on symptoms of Japanese cedar pollinosis. **XXII World Allergy Congress**. December 4-8, 2011, Cancun, Mexico.
9. **Tanaka T**, Morishima A, Hishitani Y, Yoshida Y, Nakabayashi A, Ogawa M, Kawai M, Hirano T, Hagihara K, Shima Y, Narazaki M, Ogata A, Kishimoto T, Kumanogoh A. Clinical effects of tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody on patients with autoimmune and allergic diseases. **XXII World Allergy Congress**. December 4-8, 2011, Cancun, Mexico.

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 收 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既知遺伝子解析を継続した上で、既知原因遺伝子に変異の見出されない分類不能型免疫不全症疑い検体に対して次世代シーケンサーによる遺伝子変異探索を行った。この際に、1) 家系分析から絞り込まれた領域に存在する遺伝子のタンパク質コーディングエクソン解析、2) バイオインフォマティクスにより絞り込んだ2476遺伝子のタンパク質コーディングエクソンとその周辺イントロンの配列解析、3) エキソーム解析、の3種類を実行し、それぞれの症例に特異的に見られる遺伝子変異をリスト化した。次世代シーケンシングによって得られた遺伝子変異は、それぞれ従来法のキャピラリーシーケンシングにより確認した。こうした確認された各症例のどの変異が原因遺伝子変異であるかを確定するため、候補変異を有する遺伝子についての機能情報の調査を行った。

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なう。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。

(2) CVID 責任遺伝子と予想される遺伝子のタンパク質コード領域エクソンについて、次世代シーケンサーを用いて網羅的大規模なシーケンシングを行った。

一つは、近親婚家系で SNP アレイにより特定した LOH 領域内の全遺伝子、二つ目は、昨年度研究班内で検討して作製した CVID 候補遺伝子リストの 2476 遺伝子について、これらの遺伝子のエクソン領域情報を抽出して、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った。研究班内で解析対象を決定し、実際のシーケンスと、その結果得られた配列について mapping 等

の解析を行った。三つ目は、全遺伝子のエクソン領域を抽出する市販のプロープ設計による液相濃縮系を用いて、より網羅的なシーケンシングを行った。解析対象は若年発症、家族内発症、特徴的合併症を持つ症例を抽出し、研究班内で最終決定した。

(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・遺伝子解析研究に関する倫理指針（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。特に、今年度の網羅的なエクソン解析については、別途かずさ DNA 研究所での倫理審査委員会により審議された上で承認された。

C. 研究結果

CVID 疑い検体に対して、候補 10 遺伝子、のべ 48 遺伝子の構造解析を行ったが、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新規変異例は見出されなかった。こうした既知変異がない症例を選び、より網羅的な原因遺伝子変異探索に移行した。

家族例の LOH 領域に存在する全遺伝子のエクソン解析を Roche 社 FLX を用いて 4 症例の検体について行った。それぞれ領域内の解析対象となった遺伝子数は 2000-4000 個だった。シーケンスの結果、変異として検出された箇所は 800-1600 遺伝子、そのうち homo 異常(頻度 $\geq 90\%$)は 700-1200 個程度であった。さらに Non-synonymous で dbSNP 未報告にフィルタリングすることにより約 15-50 個の遺伝子に絞られた。

次に、CVID 候補 2476 遺伝子エクソン解析を Roche 社 FLX を用いて 8 検体を行った。

4 ランで総解析塩基数はおよそ 1.7×10^9 塩基だった。シーケンスの結果から、coding 領域とスプライシングサイトの変異を中心に、dbSNP134 登録を除いた変異箇所を抽出した。このフィルタリングにより各検体について、ホモ変異約 20 箇所、ヘテロ変異約 300 箇所、コンパウンドヘテロ変異 5 組前後が private variants として抽出された。主にホモ変異とコンパウンドヘテロ変異に注目し、変異箇所について従来法（キャピラリーシーケンシング）による配列確認を行った。確認の結果、Roche 社 FLX でのエラーは、文献で言われている通り、連続する同一塩基での読み間違いの頻度が高いことが分かった。確認した配列で固有の変異であった場合は、家族解析まで進めた。各検体あたり 5-20 箇所についておこなった結果、うち 1 症例は 3 遺伝子にまで絞り込まれた。

最期に、全ゲノム上のエクソン解析を Illumina 社 GA II x を用いて 5 検体を行った。Depth >20 とすると 90%以上のカバー率だった。coding 領域と splice site、Non-synonymous、dbSNP135 登録や他検体との重複変異を除いたところ、1 検体あたりホモ変異約 40 箇所、ヘテロ変異約 350 箇所、コンパウンドヘテロ変異約 15 組にフィルタリングされた。現在従来法による配列確認を進めている。

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 の亜分類診断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

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疾患原因遺伝子候補群のリストを組み合わせることにより、今後の責任遺伝子同定への大きな進展が見込まれる。責任遺伝子同定には十分な症例数と疾患症例の血球細胞の機能情報が必須であるため、これらの統合化は極めて重要な役割を果たすと考えられる。

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た。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

計画通り、大規模シーケンシングの実施による CVID 症例の原因遺伝子探索を実現した。それによって候補変異の絞り込みが進み、今後はその変異が実際に CVID の原因変異であることの証明を行うことが大きな課題である。こうして CVID の原因遺伝子の多様性が明らかにされることによって、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. Okura Y, Yamada M, Kobayashi I, Santisteban I, Arredondo-Santisteban G, Kato Z, Iguchi A, Yoshida M, **Ohara O**, Nakagawa N, Imai K, Hershfield MS, Ariga T. ADA-SCID with 'WAZA-ARI' mutations that synergistically abolished ADA protein stability. *Br J Haematol*. **153**(5):675-6, 2011.
2. Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondoh K, Okada S, Kobayashi M, Agematsu K,

Takada H, Mitsuiki N, Oshima K, **Ohara O**, Suri D, Rawat A, Singh S, Pan-Hammarström Q, Hammarström L, Reichenbach J, Seger R, Ariga T, Hara T, Miyawaki T, Nonoyama S. Quantification of κ-deleting recombination excision circles in Guthrie cards for the identification of early B-cell maturation defects.

J Allergy Clin Immunol. **128**(1):223-225.e2, 2011.

3. 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*. **31**(3):309-14, 2011.
4. Ohta H, Miyashita E, Hirata I, Matsumura R, Yoshida H, Hashii Y, Higashiura T, Yasumi T, Murata Y, Heike T, Yang X, Kanegane H, **Ohara O**, Ozono K. Hematopoietic stem cell transplantation with reduced intensity conditioning from a family haploidentical donor in an infant with familial hemophagocytic lymphohistocytosis. *Int J Hematol*. **94**(3):285-90, 2011.
5. Mizuno T, Sakai H, Nishikomori R, Oshima K, **Ohara O**, Hata I, Shigematsu Y, Ishige T, Tamura K, Arakawa H. Novel mutations of MVK gene in Japanese family members affected with hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. *Rheumatol Int*. 2011 in press.

6. Tanaka N, Izawa K, Saito MK, Sakuma M, Oshima K, **Ohara O**, Nishikomori R, Morimoto T, Kambe N, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, de Saint Basile G, Neven B, van Gijn M, Frenkel J, Aróstegui JI, Yagüe J, Merino R, Ibañez M, Pontillo A, Takada H, Imagawa T, Kawai T, Yasumi T, Nakahata T, Heike T. High incidence of NLRP3 somatic mosaicism in patients with chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome: results of an International Multicenter Collaborative Study. *Arthritis Rheum.* **63**(11):3625-32, 2011.
7. 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. Rapid diagnosis of FHL3 by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein. *Blood.* **118**(5):1225-30, 2011.
2. 学会発表
1. **Ohara O**. Integration of New Technologies for Accurate and Rapid Molecular Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. PEDIATRIC ACADEMIC SOCIETIES and ASIAN SOCIETY FOR PEDIATRIC RESEARCH 2011 Joint Meeting PAS/ASPR 2011 Joint Meeting 2011年5月 Denver, Colorado
2. 小原 收 原発性免疫不全症研究の基盤整備 遺伝医学合同学術集会2011 2011年6月 京都
3. 釜江智佳子、本間健一、野々山恵章、今井耕輔、佐藤弘樹、満生紀子、小原收 CVIDの TREC, KREC による病型分類 第5回日本免疫不全症研究会 2012年1月(東京)
4. 小原 收 次世代シーケンシングの免疫疾患ゲノミクスにおける活用 ゲノムコンファレンス 2011年6月(東京)

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：

分類不能型免疫不全症(以下 CVID)はクラススイッチした記憶 B 細胞の減少を特徴とするが、末梢における B 細胞サブセットの評価については今まで確立したものがなかった。今回の検討においては、正確に末梢血免疫細胞分画を同定する技術を確認した。さらにこの技術を用い、健常人末梢血由来記憶 B 細胞で発現増強する遺伝子を明らかにした。

その結果、今後記憶 B 細胞数減少を主徴とする CVID での発現異常の有無の検討が可能となった。

A. 研究目的

記憶 B 細胞の減少を主徴とする成人型分類不能型免疫不全症(CVID)で病態発症責任遺伝子の探索を行なう。このため健常人の記憶 B 細胞および静止 B 細胞でそれぞれ特異的に発現増強する遺伝子を同定し、これら遺伝子の患者記憶 B 細胞、静止 B 細胞での発現の変動の有無を明らかにし、異常が認められる場合病態発症との相関を明らかにする。

B. 研究方法

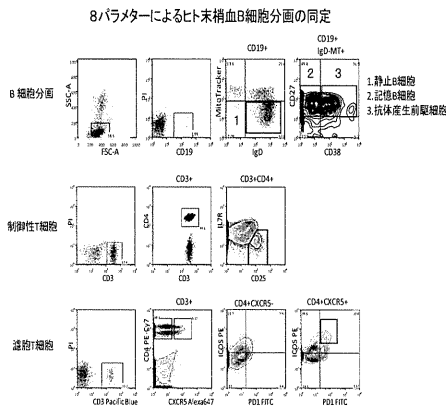
(1) 健常人、患者末梢血における免疫細胞の頻度の解析：CVID 患者および健常人末梢血由来白血球をパーコール法を用いて濃縮した。得られた細胞を FACS を用いた多重染色により T 細胞、B 細胞および記憶 B 細胞、抗体産生細胞に分画し、それぞれの頻度を測定した。(2) FACS 解析技術の開発： ABCB1 トランスポーター発現の有無を標的に記憶 B 細胞、静止 B 細胞等の正確な分画方法を整備した。(2) 細胞の精製と発現遺伝子の解析：記憶 B 細胞、抗体産生細胞および静止 B 細胞を FACS を用いて精製後、RNA を分画し各細胞に発現する遺

伝子の発現解析をマイクロアレイにより行った。さらに陽性と判定され、発現が記憶 B 細胞で高い遺伝子を選択し QPCR により発現レベルの評価を行った。を精製記憶 B 細胞、抗体産生細胞、および静止 B 細胞より RNA を精製し各細胞に発現する遺伝子の網羅的発現解析をマイクロアレイにより、さらに QPCR による発現レベルの評価を行う。

C. 研究結果

ABCB1 トランスポーターが記憶 B 細胞で陰性であることを利用し、mitotracker による細胞染色を含め 8 つのパラメーターを用いヒト末梢血中の正確な B 細胞分画の手法の確立に成功した(図 1)。またこれまで細胞内の Foxp3 染色でしか同定されなかった制御性 T 細胞、および抗体産生に重要な働きをする濾胞 T 細胞を簡単に同定する技術を確認した(図 1)。健常人記憶 B 細胞で特異的に発現増強する 134 遺伝子をマイクロアレイにより同定し(図 1)。

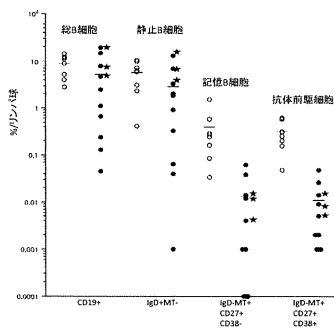
図1



これらの手法を用いて、特定の CVID の患者ではリンパ球中の B 細胞の頻度は正常であるものの記憶 B 細胞および抗体前駆細胞が選択的に減少することを確認し、これらの患者を対象とした記憶 B 細胞特異的遺伝子の発現レベルの解析を計画した(図2)。

図2

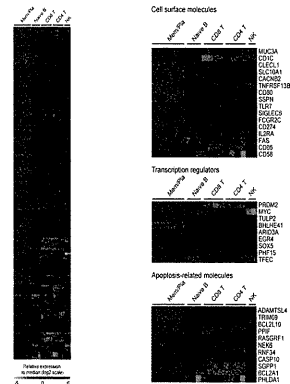
特定のCVID患者分では記憶B細胞および抗体前駆細胞の頻度が顕著に減少する



まず健常人記憶 B 細胞、そのたの細胞分画を精製し各群での網羅的発現遺伝子の解析をおこない(図3)、最終的に QPCR により 20 の遺伝子が記憶 B 細胞に発現増強する事を確認した。記憶 B 細胞数の減少を主徴とする CVID 患者由来の記憶 B 細胞でこれらの遺伝子発現レベルを解析中である。また CVID 患者での記憶 B 細胞の減少が分化前の B 細胞での機能不全を反映する可能性を考慮し、健常人、患者末梢血由来の未成熟および成熟 B 細胞で発現する遺伝子のプロファイルの比較検討を行っている。

図3

Microarray解析によるヒト末梢血中記憶B細胞に発現増強する遺伝子の検討



D. 考察

記憶 B 細胞の産生維持に関わる主要因子は不明である。健常人末梢血記憶 B 細胞で発現増強する遺伝子は細胞表面受容体、シグナル伝達因子、核内因子の多岐に渡る。記憶 B 細胞数の減少を主徴とする CVID 患者での記憶 B 細胞で発現異常を示す遺伝子が見いだされれば、記憶 B 発達とその破綻に関わる機構解明の手がかりとなる。

E. 結論

正確に末梢血免疫細胞分画を同定する技術を確立した。この技術を用い、健常人末梢血由来記憶 B 細胞で発現増強する遺伝子を明らかにし、記憶 B 細胞数減少を主徴とする CVID での発現異常の有無の検討が可能となった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Fujii H, Ato M, Takahashi Y, Otake K, Hashimoto S, Kaji T, Tsunetsugu-Yokota Y, Fujita M, Adachi A, Nakayama T, Taniguchi M, Koyasu S, **Takemori T**. HIV-1 Nef impairs multiple T-cell functions in antigen-specific immune response in mice. *Int. Immunol.* 23:433-441, 2011.

IV 研究成果の刊行に関する一覧

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Honda F, Kano H, <u>Kanegane H</u> , Nonoyama S, Kim E-S, Lee S-K, Takagi M, Mizutani S, <u>Morio T</u> .	Btk negatively regulates ROS production and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils.	<i>Nature Immunol.</i>	13	369- 378	2012
Sato R, Iizumi S, Kim E-S, Honda F, Lee S-K, Adachi N, Koyama H, Mizutani S, <u>Morio T</u> .	Impaired cell adhesion, apoptosis, and signaling in WASP-gene disrupted Nalm-6 pre-B cells and recovery of cell adhesion using a transducible form of WASp.	<i>Int. J. Hematol.</i>	95	299- 310	2012
Honda F, Hane Y, Toma T, Yachie A, Kim E-S, Lee S-K, Takagi M, Mizutani S, <u>Morio T</u> .	Transducible form of p47phox and p67phox compensate for defective NADPH oxidase activity in neutrophils of patients with chronic granulomatous disease. <i>Biochem. Biophys.</i>	<i>Res. Comm.</i>	417	162-8	2012
Uchida Y, Matsubara K, Wada T, Oishi K, <u>Morio T</u> , Takada H, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukuya T.	Recurrent bacterial meningitis by three different pathogens in an isolated asplenic child.	<i>J Infect Chemother.</i>	52	607-5	2012
Ishimura M. Takada H. Doi T. <u>Imai K</u> . Sasahara Y. <u>Kanegane H</u> . Nishikomori R. <u>Morio T</u> . Heike T. Kobayashi M. Ariga T. Tsuchiya S. Nonoyama S. Miyawaki T. Hara T.	Nationwide Survey of Patients with Primary Immunodeficiency Diseases in Japan.	<i>J Clin Immunol.</i>	31	968-76	2011
<u>Morio T</u> . Atsuta Y. Tomizawa D. Nagamura-Inoue T. Kato K. Ariga T. Kawa K. Koike K. Tauchi H. Kajiwara M. Hara T. Kato S.	Outcome of unrelated umbilical cord blood transplantation in 88patients with primary immunodeficiency in Japan.	<i>Br. J. Haematol.</i>	154	363-72	2011