

201128159A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 原 寿郎

平成24年3月

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 原 寿郎

平成 24 年 3 月

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

目 次

I. 班員・研究協力者名簿..... 3

II. 統括研究報告 7

 原 寿郎(九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野教授)

 ○参考資料

III. 分担研究報告

 1. 原発性免疫不全症候群疫学調査二次調査結果 内分泌疾患に関して 47

 石村 匡崇、野崎 高史、高田 英俊、井原 健二、原 寿郎

 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)

 今井 耕輔、森尾 友宏 (東京医科歯科大学大学院発生発達病態学)

 小林 正夫 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)

 野々山恵章 (防衛医科大学校医学研究科小児科学)

 2. STAT1異常症の解析 53

 平田 修、津村 弥来、唐川 修平、岡田 賢、小林 正夫

 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学)

 3. 高IgE症候群における骨異常の発症機構の解明 58

 峯岸 克行 (東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学)

 4. 高IgE症候群STAT3変異体の解析 61

 上松 一永 (信州大学医学研究科感染防御学)

 5. ヒトiPS細胞からの血球分化系の構築と、これを用いた先天性免疫不全症の病態解析 64

 中畑 龍俊 (京都大学iPS細胞研究所)

 6. 原発性免疫不全症の病態解析 69

 森尾 友宏、満生 紀子、高木 正稔、水谷 修紀 (東京医科歯科大学大学院発生発達病態学)

7. B・NK・DC・単球欠損を伴うGATA2異常症の病態に関する検討	73
<p>本間 健一 釜江智佳子 (防衛医科大学校医学研究科小児科学)</p> <p>今井 耕輔 (東京医科歯科大学大学院発生発達病態学)</p> <p>石田 宏之 (松下記念病院小児科)</p> <p>伊藤 嘉規、小島 勢二 (名古屋大学大学院医学系研究科小児科)</p> <p>横須賀とも子 (横浜市立大学附属病院小児科)</p> <p>金兼 弘和 (富山大学附属病院小児科)</p> <p>笹原 洋二、森尾 友宏 (東北大学大学院医学系研究科小児病態学)</p> <p>渡辺 信和 (東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター病態解析領域)</p> <p>小原 収 (かずさDNA研究所、理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センター)</p> <p>古関 明彦、河本 宏 (理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター)</p> <p>大嶋 宏一、斉藤 潤、中畑 龍俊 (京都大学iPS細胞研究所(CiRA))</p> <p>野々山恵章 (防衛医科大学校医学研究科小児科学)</p>	
8. 家族性血球貪食性リンパ組織球症2型のCD8 ⁺ T細胞におけるCD5発現低下	76
<p>和田 泰三、榊原 康久、東馬 智子、笠原 善仁、谷内江昭宏</p> <p>(金沢大学医薬保健研究域医学系小児科)</p>	
9. 細胞核に局在するWASP蛋白質の機能解析	79
<p>笹原 洋二、Looi Chung Yeng、渡辺 祐子、内山 徹</p> <p>(東北大学大学院医学系研究科小児病態学)</p> <p>久間木 悟 (みやぎ県南中核病院小児科)</p> <p>土屋 滋 (東北文化学園大学)</p>	
10. 自然免疫の異常による原発性免疫不全症の臨床像と診断	86
<p>高田 英俊 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)</p> <p>吉川 秀人、今泉 益栄 (宮城県立こども病院)</p> <p>野々山恵章 (防衛医科大学校医学研究科小児科学)</p> <p>七條 光一 (徳島赤十字病院小児科)</p> <p>島袋 陽子、喜瀬 智郎 (沖縄県立南部医療センター・こども医療センター)</p> <p>Capucine Picard、Jean-Laurent Casanova (The Rockefeller University)</p> <p>原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学)</p>	
11. IKBA遺伝子に新規変異を有する外胚葉形成不全免疫不全症の病態解析と 迅速診断スクリーニングについて	91
<p>大西 秀典、久保田一生、山本 崇裕、加藤善一郎、近藤 直実</p> <p>(岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学)</p> <p>金子 英雄 (国立病院機構長良医療センター臨床研究部)</p>	

12. C3欠損症における遺伝子変異と臨床像の関連の検討	96
大倉 有加、山崎 康博、山田 雅文、竹崎俊一郎、小林 一郎、有賀 正 (北海道大学大学院医学研究科小児科学)	
13. 次世代シーケンサーを用いたNLRP3体細胞モザイクの診断の実用	101
平家 俊男、西小森隆太 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学) 小原 収 (かずさDNA研究所ヒトゲノム研究部) 土方 敦司 (理化学研究所横浜研究所) 井澤 和司 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)	
14. IL-1beta活性化におけるdipeptidyl peptidase I(Cathepsin C)のin vivoでの役割	104
河野 肇、柳田たみ子、高山 真希、菊地 弘敏 (帝京大学医学部内科学) Kenneth L Rock、Zubin Patel (UMass Med School)	
15. Infliximabによる外胚葉異形成免疫不全症難治性腸炎の治療	109
布井 博幸 (宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学) 水上 智之 (国立病院機構熊本再春荘病院小児科) 西小森隆太、平家 俊男 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)	
16. NK, B, 単球減少症(monoMAC syndrome)に対し、非血縁者間骨髄移植を行った10歳 男児例	114
横田 俊平、横須賀とも子 (横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学)	
17. X連鎖リンパ増殖症候群タイプ1(SAP欠損症)に対する造血幹細胞移植	116
金兼 弘和、Yang Xi、西田 直徳、宮脇 利男 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)	
18. 免疫不全症のQOL調査、移植研究	119
小島 勢二 (名古屋大学大学院医学系研究科小児科学) 村松 秀城 (名古屋大学医学部附属病院小児科)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧	125

I 班員・研究協力者名簿

原発性免疫不全症候群調査研究班
班員・研究協力者名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研 究 代 表 者	原 寿郎	九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野	教 授
研 究 分 担 者	宮脇 利男	富山大学大学院医学薬学研究部小児科学	教 授
	有賀 正	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野	教 授
	野々山恵章	防衛医科大学校医学研究科小児科学	教 授
	森尾 友宏	東京医科歯科大学大学院発達病態小児科学分野	准 教 授
	上松 一永	信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症学	准 教 授
	近藤 直実	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学分野	教 授
	小島 勢二	名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学	教 授
	谷内江昭宏	金沢大学大学院医学系研究科血管発生発達病態学	教 授
	平家 俊男	京都大学大学院医学研究科小児科学	教 授
	小林 正夫	広島大学大学院病態情報医科学講座小児科学	教 授
	布井 博幸	宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野	教 授
	横田 俊平	横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学	教 授
	中畑 龍俊	京都大学 iPS 細胞研究センター再生医学	特 任 教 授
	峯岸 克行	東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学	准 教 授
	笹原 洋二	東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野	講 師
	河野 肇	帝京大学医学部内科リウマチ・アレルギー科	准 教 授
研 究 協 力 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
	石川 文彦	理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センターヒト疾患モデル研究ユニット	ユニットリーダー
	小原 收	かずさ DNA 研究所ヒトゲノム応用研究部	部 長
	岩田 力	東京家政大学家政学部児童学科	教 授
	赤城 邦彦	神奈川県立こども医療センター	母子保健室長
	大石 勉	埼玉県立小児医療センター	保健発達部長
	久間木 悟	みやぎ県南中核病院	内科系診療
	河合 利尚	国立成育医療センター研究所遺伝子診断治療研究室	室 長
事 務 局	高田 英俊	九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 〒812-8582 福岡県福岡市馬出 3 丁目 1-1 TEL:092-642-5421 FAX:092-642-5435 e-mail:takadah@pediatr.med.kyushu-u.ac.jp	准 教 授
経理事務担当者	都々木 明	九州大学医系学部等経理第一係 TEL:092-642-6006 FAX:092-642-6022 e-mail:ijzkeiri1@jimu.kyushu-u.ac.jp	係 長

Ⅱ 総括研究報告

統括研究報告

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

代表研究者 原 寿郎

（九州大学大学院成長発達医学分野教授）

研究要旨

本調査研究班は、原発性免疫不全症候群の患者 QOL と医療水準の向上に貢献するため以下の研究を重点的に行った。

(1) 全国疫学調査結果の解析

平成 20 年度、国内 2,894 病院に対して行った原発性免疫不全症候群の全国疫学調査結果より、患者の臨床像をさらに検討した結果、原発性免疫不全症患者における内分泌疾患の有病率が一般人口における有病率より明らかに高いことがわかった。

(2) 新規診断法、迅速診断法の開発

CINCA 症候群で、これまで診断が困難だった体細胞モザイク症例を次世代シーケンサーを用いて早期に診断する方法を樹立した。p47phox や p67phox、STAT1 異常症のフローサイトメーターによる迅速診断法を開発した。

(3) Primary Immunodeficiency Database in Japan プロジェクトへの登録、遺伝子解析

国内の原発性免疫不全症患者の on line での登録、主治医からの診断治療に関する相談受付、遺伝子解析を、理化学研究所、かずさ DNA 研究所と共同で継続している。

(4) 責任遺伝子の同定や病態の解明

iPS 細胞を用いた原発性免疫不全症の病態解析法を樹立した。慢性皮膚粘膜カンジダ症の責任遺伝子を同定し、STAT1 異常症の特徴を明らかにした。高 IgE 症候群の異常な STAT3 分子の特徴や、骨病変の発生メカニズムを解明した。XLA 患者の感染症罹患時の好中球減少のメカニズム、T 細胞における WASP の発現調節機構、C3 欠損症の遺伝子異常と臨床像との関連、新たな免疫不全症である GATA2 異常症の臨床像の特徴および病態、FHL にみられる T 細胞の CD5 発現低下、IL-1 β 活性化機構などを明らかにした。

(5) 治療ガイドラインの作成と新規治療法の開発

SCID、CGD、Wiskott-Aldrich 症候群に加えて高 IgM 症候群の造血幹細胞移植ガイドラインをホームページに公開した。重症先天性好中球減少症などについても造血幹細胞移植ガイドラインを作成中である。SAP 欠損症患者では、造血幹細胞移植例 12 例中 11 例が生存しており、造血幹細胞移植が必須であることが確認された。原発性免疫不全症の医師向け、患者向けの概説書を作成中であり、まとまり次第公開する。

(6) 患者家族や医療者への継続的情報提供

患者や主治医の登録は継続してオンラインで行っており、原発性免疫不全症候群に関する最新の情報を研究会、ホームページなどで医師、患者家族に提供している。また患者家族会との連携を深め、講演会・相談会を実施した。

分担研究者

宮脇 利男・富山大学大学院医学薬学研究部小児科学教授
有賀 正・北海道大学大学院医学系研究科小児科学分野教授
野々山恵章・防衛医科大学校医学研究科小児科学教授
森尾 友宏・東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発達病態小児科学准教授
上松 一永・信州大学大学院医学研究科移植免疫感染症学准教授
近藤 直実・岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学分野教授
小島 勢二・名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学教授
谷内江昭宏・金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻病態検査学教授
平家 俊男・京都大学大学院医学研究科小児科学教授
小林 正夫・広島大学大学院病態情報医科学講座小児科学教授
布井 博幸・宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学分野教授
横田 俊平・横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学教授
中畑 龍俊・京都大学物質・細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター教授
峯岸 克行・東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学准教授
笹原 洋二・東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野講師
河野 肇・帝京大学医学部内科講師

研究協力者

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
石川 文彦・理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター
ヒト疾患モデル研究ユニットユニットリーダー
小原 収・かずさ DNA 研究所ヒトゲノム応用研究部部長
岩田 力・東京家政大学家政学部児童学科教授
赤城 邦彦・神奈川県立こども医療センター母子保健室長
大石 勉・埼玉県立小児医療センター保健発達部長
久間木 悟・みやぎ県南中核病院内科系診療部長
河合 利尚・国立成育医療センター研究所遺伝子診断治療研究室室長

I. 研究の目的

原発性免疫不全症候群には 200 種類以上の疾患があり、専門医が不足し適切な医療を受けられない場合がある。診断には遺伝子検査などの特殊検査を要することが多い。本研究班は、on line での患者登録などによる患者実態の把握、診断や治療に関する患者や主治医からの相談に対する専門的アドバイスを含む情報提供、診断スクリーニング法の開発や遺伝子解析システムの整備、最新の分子遺伝学的・免疫学的手法を駆使した病因・病態解析、治療ガイドラインの作成、治療法の改良、遺伝子治療を含めた新規治療法の開発、等を介して原発性免疫不全症患者 QOL と医療水準の向上に貢献することを目的としている。

原発性免疫不全症は、患者の長期的予後や QOL のためにも早期診断が重要であり、多くの疾患で迅速診断が可能となるよう研究を継続する。このなかで重症複合免疫不全症は、緊急的に造血幹細胞移植を要する疾患であり、海外では新生児全体を対象としたスクリーニング検査を実施している地域もあり、当班研究でも実施可能であることを既に証明しており、その実施に向けて調整している。

平成 20 年度に行った全国疫学調査については、既に全体像の解析結果を報告しているが、これに含まれる情報は国内の原発性免疫不全症患者の実態を示す貴重な資料であり、新たな知見を得よう、詳細な解析を継続する。

まだ原因や病態が解明されてい

ない疾患も多い。マイクロアレイ法による遺伝子発現の解析や、エキソーム解析を駆使することによって、責任遺伝子の同定に向けた研究を推進している。ヒトの疾患から明らかになったことを基として、そのノックインマウスやヒト化マウスを作成し、病態解明に活用している。また、iPS 細胞を作成して病態を解析する場合、単一遺伝子疾患である原発性免疫不全症は、最も適切な研究対象疾患と考えられ、積極的に活用し研究を行う。ヒト化マウスや iPS 細胞は、病態解析に有用であるばかりでなく、治療法の開発においても重要な tool であり、研究を推進していく。

造血幹細胞移植についても、国内外の成績に関する情報を集積し、最も良い方法をホームページで公開し、移植実績のある施設を紹介している。さらに多くの疾患について治療ガイドラインを作成し公開する。

重症複合免疫不全症は最初に遺伝子治療がなされた疾患であり、リンパ球の分化増殖という点を考慮した場合、最も遺伝子治療に適した疾患と言える。国内外で安全性を高めたベクターが次々と開発されてきており、これを用いた研究を推進していく。また遺伝子修復、iPS 細胞を用いた再生医療についても研究を推進する。

II. 研究方法

本調査研究では、以下の重点目標を掲げ、国際的動向や国内でのこれまでの調査結果に基づいて、我が国の背景

をふまえた研究を行い、患者・家族へ最善の治療の提供し、QOL の向上に寄与したい。

(1). 疫学調査研究：国内の原発性免疫不全症患者の実態を解明するために、平成 20 年度に、全国疫学調査を行った。これについては、全体的な結果について既に報告している。頻度が高い代表的な疾患については、さらに詳細に二次調査を行い、病像を明らかにした。これらの情報を詳細に検討することにより、これまでにわかっていない原発性免疫不全症の臨床像の特徴や、国内症例の特徴が明らかになるものと期待される。

これと並行して、理化学研究所と共同で PIDJ ホームページを開設し、患者および主治医の登録を継続している。ここでは、主治医からの診断・治療に関する相談、遺伝子解析の依頼にも対応している。

(2). 新規診断法、迅速診断法の開発と遺伝子解析：遺伝子診断には時間がかかるので、他の簡易な方法でのスクリーニングがあれば、より効率的に迅速に診断ができる。これまで各疾患の専門施設が病態の特徴を利用した簡易スクリーニング法を開発してきた。フローサイトメーター、定量的 PCR 法などを駆使して迅速診断法をさらに開発する。

遺伝子解析は、当班研究の班員施設を介して on line で遺伝子解析依頼を受け付け、理化学研究所およびかずさ DNA 研究所で行う。

(3). 責任遺伝子、発症機構、病態の解

明：責任遺伝子が同定されていない免疫不全症も多い。これまで、分子免疫学的な理論に基づいて、患者遺伝子解析を行っていたが、今後さらに責任遺伝子同定を進めるには、より網羅的な解析も必要である。遺伝子アレイ法やエキソーム解析などの方法により、新たに責任遺伝子を同定し、病態の解明に基づいた診断法や治療法の開発につなげる。iPS 細胞やヒト化マウスの技術を積極的に取り入れた病態解析を行う。

(4). 治療ガイドラインの作成と新規治療法の改良・開発：疾患の種類や重症度に応じて、最も適切な治療ガイドラインを作成し提示する。これまで、重症複合免疫不全症、CGD、Wiskott-Aldrich 症候群については造血幹細胞移植ガイドラインを作成しホームページに掲載した。今年度は高 IgM 症候群に対する造血幹細胞移植ガイドラインを作成し既に提示している。原発性免疫不全症における感染症に対する治療法についても課題が多く、今回、慢性肉芽腫症における BCG 感染症については、治療ガイドラインを作成した。このように原発性免疫不全症の実際の診療上の具体的な問題についても対策法を提示していく。遺伝子治療研究は、造血幹細胞、iPS 細胞を用いた遺伝子治療や遺伝子修復法の開発研究を継続する。遺伝子治療については、海外でベクターの改良が進んでおり、安全性が確認されたものについては、ヒト化マウス疾患モデルを利用しながら、遺伝子治療研究

を推進していく。

(5). 患者 QOL 調査と患者家族や医療者への継続的情報提供体制：診断基準や確定診断に必要な検査項目、専門病院、遺伝子検査を行う施設名や連絡先、治療指針、造血幹細胞移植のガイドラインなどの情報をホームページに掲載している。

(<http://pidj.rcai.riken.jp/index.html>)
ここでは、担当医師への継続的情報提供、意見交換を行っている。QOL 調査としては、XLA の調査に引き続き、現在造血幹細胞移植後の QOL 調査の準備を行っている。

Ⅲ. 研究結果と考察

(1) 全国疫学調査の解析結果

平成 20 年度に原発性免疫不全症候群患者の全国疫学調査を行い、わが国における PID 患者数は約 3500 人、推計有病率は 2.7 人/人口 10 万人対であること、悪性腫瘍や自己免疫疾患の合併症が多いことなどを既に報告している。昨年度の班研究では、重症複合免疫不全症の予後を改善させるために、新生児スクリーニングが必要であると考えられること、高 IgE 症候群患者の呼吸器合併症の予防が必須であることなどを明らかにした。

今回、原発性免疫不全症の新たな臨床像として、原発性免疫不全症患者は内分泌疾患の合併が著しく多いことを明らかにした。二次調査で報告された原発性免疫不全症患者 923 例のうち、内分泌疾患合併例は 49 例認められた。その中で、内分泌症候が主要症

状である DiGeorge 症候群、IPEX 症候群、APECED で内分泌疾患の合併が特に高率にみられた。若年者（0-19 歳）では健常者と比較して、1 型糖尿病 78 倍、2 型糖尿病 35 倍、成長ホルモン分泌不全性低身長症 63 倍、などであった。IPEX 症候群ではこれまでの報告と同様に 1 型糖尿病の発症時期が早く、乳児期にみられ、糖尿病性ケトアシドーシスを呈することが多かった。他方、1 型糖尿病の合併は欧米の 70% よりも低く 33.3% であった。橋本病の発症は IPEX 症候群患者では発症が早く、出生時から見られていた。WHIM 症候群での 1 型糖尿病の合併は世界初の報告である。造血幹細胞移植を受けていない CD4 欠損症患者が橋本病を合併しており、初めての報告である。XLA、IgG サブクラス欠損症、CGD で甲状腺機能低下症（橋本病以外）の発症が認められており、これも初めての報告である。また、無ガンマグロブリン血症、高 IgE 症候群患者で性腺機能低下症が認められており、この点もこれまで報告がない。このように原発性免疫不全症患者に内分泌疾患が高頻度で認められることが明らかになった。内分泌疾患のなかには治療開始を急がなければならない疾患も多く、見逃してはならない重要な合併症である。

(2) 新規診断法、迅速診断法の開発、
Primary Immunodeficiency Database in Japan (PIDJ) プロジェクトへの登録、遺伝子解析実績

自然免疫不全症である IRAK4 欠損

症の迅速診断を開発し、国内症例を集積してきた。その結果、国内の4家系、7名の IRAK4 欠損症患者を同定した。7名中4名が乳児期に死亡しており、急速に進行する肺炎球菌性化膿性髄膜炎による死亡が3名に見られた。1例は緑膿菌による壊死性筋膜炎／敗血症であった。臍帯脱落遅延は6例に認められた。これらの症例を含めた国内外の症例の検討により、IRAK4 欠損症、MyD88 欠損症の臨床像が詳細に明らかになり、化膿性髄膜炎や敗血症などの Invasive bacterial infection の頻度が高いこと、起炎菌として肺炎球菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌の頻度が高いことなどが判明した。臍帯脱落遅延もこの疾患の特徴であることが明確になった。死亡率は約 50%と高く、また次第に易感染性がなくなることから、早期診断、および乳幼児期の感染症予防の重要性が確認された。IRAK4 欠損症のスクリーニングをした症例の中には、明らかな異常値を取った例があり、IRAK4 や MyD88 遺伝子には異常がなく、最終的に IKBA 遺伝子異常が判明し、外胚葉形成不全症と診断された例が認められた。従って、この方法は IRAK4 欠損症、MyD88 欠損症、NEMO 異常症だけでなく、IKBA 遺伝子異常症のスクリーニングにも有用であることが判明した。

CINCA 症候群ではこれまで診断が困難だった体細胞モザイク症例を次世代シーケンサーを用いて早期に診断する方向を樹立した。CINCA 症候群は NLRP3 インフラマゾームの異常

活性化による IL-1 β 過剰産生に伴い全身炎症を生じる自己炎症疾患である。我々は NLRP3 体細胞モザイクによる CINCA 症候群を報告してきたが、サブクローニング法をもちいたサンガー法によるシーケンスには多大な時間と労力を要する。そのため、次世代シーケンサーを用いた NLRP3 体細胞モザイクの迅速診断を試みた。正常人 50 人での遺伝子解析結果をもとに、シーケンスエラーとモザイクを区別するパイプラインを作成した。NLRP3 ヘテロ変異を有するゲノム DNA と健常人のゲノム DNA による混合試験を行い、アリル頻度 1%の NLRP3 変異まで検出可能であった。また実際に、変異陰性の新規 CINCA 症候群 10 人中 4 人において NLRP3 体細胞モザイクであった。

国内の原発性免疫不全症患者の現状把握、病態解析、診断治療方法の確立等の必要性から、当班研究、理化学研究所、かずさ DNA 研究所の共同事業として、2008 年 1 月から PIDJ プロジェクト継続している。平成 23 年 12 月時点で、このプロジェクトでの登録患者数は 1343 人であり、原発性免疫不全症診断のために解析した遺伝子数はのべ 3315 遺伝子にのぼる（参考資料 1）。

(3) 責任遺伝子の同定や病態の解明

1. ヒト iPS 細胞からの血球分化系の構築と、これを用いた先天性免疫不全症の病態解析

iPS 細胞は京都大学の山中らによって見出された多能性幹細胞で、皮膚や

血球などから樹立することができ、様々な体細胞に分化させることができる。患者 iPS 細胞を各種免疫担当細胞に分化させ、その分化過程や形成された細胞の機能を正常人 iPS 細胞由来の細胞と比較、解析することにより、先天性免疫不全症の病態解明や創薬につなげることが可能である。今回、患者由来 iPS 細胞を作成し、より安定した分化系を樹立するため、フィーダーフリー、無血清の二次元培養法で細胞を培養し、血球系細胞へ分化させた。その結果、ヒト iPS 細胞から血球の発生過程を模倣する形で中胚葉分化、血液、血管内皮共通の母細胞であるヘマンジオブラストを経て、各種血液細胞が産生される系を構築することができた。様々な血球が産生されたが、自然免疫異常の解析に重要な単球、マクロファージ、樹状細胞は、貪食能、抗原提示能、機能的なサイトカイン産生などを認め、患者の病態解析に使用できる可能性が示唆された。

種々の先天性免疫不全症患者の皮膚を生検により採取し、培養にて線維芽細胞のストックを作成した。iPS 細胞の樹立は、標準的手法である 4 因子 (Oct, Klf, c-Myc, Sox4) をレトロウイルスベクターやセンダイウイルスベクターで導入する方法でおこなった。この方法で樹立不能な例では最近開発されたエピゾーマルベクターを試みている。

2. 慢性皮膚粘膜カンジダ症の責任遺伝子の解明、STAT1 異常症の解析

STAT1 (signal transducer and activator of transcription-1) は IFN を代表とするサイトカインのシグナ

ル伝達を担う重要な細胞内分子である。STAT1 異常症は細胞内寄生菌に対する易感染性を示し、Mendelian susceptibility to mycobacterial disease (MSMD) の原因の 1 つである。

慢性皮膚粘膜カンジダ症は、古くから知られている原発性免疫不全症の代表的疾患であり、その原因は不明であった。今回、当研究班の小林らは、エキソーム解析により慢性皮膚粘膜カンジダ症の責任遺伝子が STAT1 遺伝子であることを明らかにした。慢性皮膚粘膜カンジダ症では、遺伝子変異により異常な蛋白の機能亢進が生じており、その結果 Th17 細胞の分化障害がおこるものと考えられる。

STAT1 遺伝子異常による MSMD についても今回解析を行った。優性遺伝型 MSMD 患者 (2 家系 5 症例) において、新規 STAT1 遺伝子ヘテロ接合性変異 2102 A>G (Y701C), 2018 A>G (K673R) を同定し、機能解析を行った。SH2 ドメインに変異を認める K673R では、リン酸化能・核移行能の低下があり、TS ドメインに変異を認める Y701C は、Y701 リン酸化部位の変異であり完全にリン酸化が障害されていた。どちらの変異も共導入実験で IFN- α 刺激に対する ISRE 転写活性はほぼ正常であるものの、IFN- γ 刺激に伴う GAS 転写活性の優性阻害効果を認めており、細胞内寄生菌への易感染性が示唆された。

3. 高 IgE 症候群における骨異常症の発症機構の解析及び責任遺伝子 STAT3 変異体の解析

高 IgE 症候群は、黄色ブドウ球菌に

よる皮膚膿瘍と肺炎にアトピー性皮膚炎・血清 IgE 高値を合併する原発性免疫不全症である。骨異常を特徴とする 1 型の高 IgE 症候群の主要な原因が STAT3 のドミナントネガティブ (DN) 変異であることが明らかになったが、その病態形成機構には不明な点が多い。骨異常の発症機構を検討する目的で、STAT3-DN を全身に発現する高 IgE 症候群のモデルマウスを作製した。この検討により①骨芽細胞の機能低下による骨の機械的強度の低下と②骨芽細胞上の RANKL (Receptor activator of NF- κ B Ligand) の発現低下と破骨細胞の分化障害を明らかにしてきたが、その分子メカニズムは不明であった。今回、このメカニズムを検討し STAT3 は炎症による骨破壊だけでなく、生理的な骨破壊にも重要な役割を果たしていることを明らかにした。

次に、責任遺伝子 STAT3 遺伝子異常で生じる STAT3 変異蛋白の機能について解析した。各々の STAT3 変異体について、Y705 リン酸化、gp130 結合能、二量体化、局在、DNA 結合能ならびに transcription の検討を wild-type と比較した。多くの STAT3 変異体は、刺激後の局在に差異はみられたものの、gp130 との結合、リン酸化、二量体化には必ずしも影響を及ぼさなかった。しかしながら、DNA 結合能や transcriptional 活性が wild-type に比べ低下していた。IL-6/IL-10 などシグナル伝達系において、STAT3 が関与するさまざまな

過程で STAT3 変異は影響を与え、高 IgE 症候群の病態に関与していると考えられた。

4. XLA 患者の感染症罹患時の好中球減少のメカニズムの解明

XLA 患者では感染症を契機にして好中球減少を示すことがあるが、その原因は今まで不明であった。

今回、BTK が好中球の活性化を調節する鍵となる分子であることを初めて明らかにした。BTK 欠損好中球は様々な刺激に対して、過剰な活性酸素 (ROS) を産生し、ROS によりアポトーシスに至る。BTK 欠損好中球に組換え BTK タンパクを導入することにより ROS 産生やアポトーシスは正常化した。

好中球からの ROS 産生には NADPH oxidase 複合体の活性化が必要であるが、その最初の活性化段階には Mal (MyD88-adaptor like protein) の膜移行→PI(3)キナーゼの活性化が重要である。今回の検討で、BTK は通常は細胞質内で Mal (MyD88-adaptor like protein) と会合していて、その膜移行を阻止していることが明らかになった。BTK が欠損すると Mal は膜に移動し、PI(3)K と会合し、そのために NADPH oxidase 複合体が活性化準備状態になっていた。Btk に欠陥があるとまた様々なチロシンキナーゼが活性化し、これらもまた Mal の膜移行に関与していることが明らかになった。

5. 細胞核に局在する WASP タンパク質の機能解析

これまで WASP の機能解析の局在は細胞膜と細胞質が中心であったが、近年 T 細胞核内で WASP の有無が Th1/Th2 分化関連遺伝子群の転写調節を制御する事が報告されている。今回、骨髓球系細胞株を用いて、野生型及び XLN 関連恒常的活性化変異 WASP の局在と細胞核内での機能を解析した。恒常的活性化変異 WASP はチロシンリン酸化が亢進し、より細胞核内へ局在した。ChIP 法にて WASP は DNA と共沈し、免疫沈降法にて p54nrb、RNA polymerase II と複合体を形成した。また microarray 法により WASP 活性化変異により骨髓球系細胞分化関連分子群の発現の差異が観察され、ChIP on chip 法にてこれら遺伝子群転写調節領域への WASP 結合親和性が異なることが示唆された。以上より、WASP は骨髓球系の細胞核内において遺伝子転写調節因子として機能することが示された。

6. B 細胞、NK 細胞、樹状細胞欠損を伴う新規原発性免疫不全症である GATA2 異常症の国内症例の同定と病態解析

先天性免疫不全症候群において、様々な造血障害が合併することが知られている。平成 21 年 2 月に開始された小児血液学会 AA/MDS 中央診断登録 500 例のうち、4 例で B(-)NK(-)の phenotype を有する免疫不全が合併した造血障害症例が登録された。うち 2 例で GATA2 遺伝子変異が認められた。

次に、PIDJ を介して紹介された患者 118 例のうち 4 例で Myeloid DC (mDC)、Plasmacytoid DC (pDC) がともに欠損している患者を見出した。2 例で Exome 解析を行い、GATA2 遺伝子異常が認められた。さらに国内 6 例の GATA2 異常症を同定した。TREC、T 細胞分画、サイトカイン産生を解析した結果、T 細胞機能の異常があることを初めて明らかにした。

7. C3 欠損症における遺伝子変異と臨床像の関連の検討

C3 欠損症は常染色体劣性遺伝形式をとる非常に稀な疾患である。本症は易感染性と免疫複合体病の両者の病態が認められるとされているが、症状は一樣ではなく、その遺伝子型と表現型の関係も明らかではなかった。今回、3 家系を含めた報告例 27 家系における C3 欠損症の臨床像と遺伝子変異を解析した。その結果、臨床像は大きく①重症感染症、②SLE または SLE 様症状、③腎症状に分類された。また両アリの遺伝子変異が同定されている 11 家系の検討により、β鎖上およびα鎖の TED ドメインよりも N 末端側に変異を有する症例は全て易感染性を主症状としているのに対し、α鎖上の TED ドメインないしそれよりも C 末端側に変異を有する症例は SLE、SLE 様症状ないし腎炎を主症状とすることが明らかとなり、遺伝子型と表現型に相関があることが示された。変異の種類はすべてナンセンス変異あるいはフレームシフト変異を来すものであることより、TED ドメインよ

り N 末側の変異では蛋白発現の欠損につながるが、TED ドメインないしそれより C 末側の変異では変異 C3 蛋白は産生され、感染防御機能は残存しているものの自己免疫疾患の発症のリスクとなる可能性が示唆された。

8. FHL2 型の CD8⁺T 細胞における CD5 発現の低下

家族性血球貪食性リンパ組織球症 2 型 (FHL2) は、パーフォリンの異常に起因する。細胞傷害活性の低下によりウイルス感染細胞等の除去が制限され、リンパ球やマクロファージの異常活性化と高サイトカイン血症が引き起こされる。今回、FHL2 の 4 症例において、高サイトカイン血症が存在する急性期に、CD5 発現が低下した異常な活性化 CD8⁺T 細胞が共通して存在することを見出した。同細胞の比率は、炎症の程度と相関し、生存例では治療とともに減少した。最近我々は、同様の細胞集団が EB ウイルス関連血球貪食性リンパ組織球症において特徴的に認められ、それらが EBV 感染 CD8⁺T 細胞であることを報告している。以上より、活性化 CD8⁺T 細胞の CD5 発現低下は、血球貪食性リンパ組織球症でみられる制御不能な異常活性化と関連している可能性があると考えられた。

9. IL-1 β 活性化における dipeptidyl peptidase 1 (Cathpsin C) の役割

In vitro においては活性型 IL-1 β の分泌にはインフラマソームと caspase1 の活性化が必要不可欠である。しかし、in vivo においては IL-1 β

依存性炎症の惹起に caspase1 の活性化は必ずしも必要ではないことが明らかになってきた。in vitro においては caspase-1 以外にも好中球セリンプロテアーゼが IL-1 β を切断し活性化を行う酵素活性を持っていることが知られていた。今回我々は、これら好中球セリンプロテアーゼの活性化を司る cathepsin C が in vivo において caspase-1 非依存性経路において重要な役割を果たしていることを発見した。

(4) 治療ガイドライン作成と新規治療法の開発

1. 治療ガイドラインの作成

これまで、X-SCID、CGD、Wiskott-Aldrich 症候群の造血幹細胞移植ガイドラインを作成し、ホームページに公開した。今回新たに、高 IgM 症候群の造血幹細胞移植ガイドラインを作成し、公開した。

(http://pidj.rcai.riken.jp/medical_guideline.html)

造血幹細胞移植後は、HLA-Flow 法でキメリズムの動態を各血球分画ごとに詳細に検討しデータを集積している。

重症先天性好中球減少症に関しても、国内外の造血幹細胞移植の成績を基に議論し、造血幹細胞移植ガイドラインを作成し、公開する予定である。これ以外の、今年度の原発性免疫不全症に対する新規治療法に関連した研究内容は以下のとおりである。

2. Infliximab による外胚葉形成不全症難治性腸炎の治療

NEMO (Nuclear factor kappa-B essential modulator) 変異 (G505C, A169P) による外胚葉異形成免疫不全症の患者が、4 歳時から難治性炎症性腸炎等の炎症性疾患を起こしてきた。NEMO 遺伝子を調べたところ、復帰変異が確認された。NEMO 復帰変異による TNF- α 産生細胞が腸炎の病因となっていると考えられたため、抗 TNF- α 抗体 (Infliximab) 投与による治療を行った。投与直後より腹部症状の改善 (腹痛や下痢の回数などの減少) が得られ極めて有効であった。NEMO 異常症の NEMO 遺伝子復帰変異による自己炎症性疾患に対して、抗 TNF- α 抗体が有効であると考えられた。

3. NK、B、単球減少症 (monoMAC 症候群) に対する非血縁者間骨髄移植

GATA-2 遺伝子変異が関与している MonoMAC 症候群が近年注目されている。私たちは、10 歳時に水痘帯状疱疹ウイルス (VZV) の初感染ののちに血球貪食症候群 (HPS) を発症した monoMAC 症候群に対し、血中のウイルス DNA が検出されたまま、非血縁者間骨髄移植を施行した。移植中にウイルスの再活性化により合併症を来すことなく、移植後 2 ヶ月にウイルス DNA は陰性化した。HPS のコントロールがつかず、また腫瘍化する危険性から、骨髄移植を施行し、移植後 2 ヶ月で、単球の増加を確認した。

4. X 連鎖リンパ増殖症候群タイプ 1 (SAP 欠損症) に対する造血幹細胞移植

X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) タイプ 1 (XLP-1 または SAP 欠損症) はまれな原発性免疫不全症候群であり、その原因遺伝子は SH2D1A 遺伝子である。XLP の予後は不良であるとされ、造血幹細胞移植 (HSCT) が唯一の根治的治療である。わが国の XLP-1 患者 33 例のうち 12 例で HSCT が行われ、うち 11 例が平均フォローアップ期間 7 年 9 か月で生存していた。しかし HSCT が行われなかった 21 例はすべて 40 歳台までに死亡していた。わが国の XLP-1 患者に対しては HSCT が望ましいと考えられる。

(5) 患者 QOL 調査と患者家族や医療者への継続的情報提供

造血幹細胞移植後の患者 QOL に関する研究を準備中である。診断基準、迅速診断を行っている施設、確定診断に必要な検査項目、専門病院、遺伝子検査を行う施設名や連絡先などの情報をホームページに掲載している。PIDJ ホームページでは症例の相談を受け付けており、各疾患の専門家が主治医にむけて診断や治療のアドバイスをしている。原発性免疫不全症の医師向け、患者向けの概説書の作成を行っており、まとまり次第公開する予定である。日本免疫不全研究会 (参考資料 2: プログラム) を班会議翌日に開催し、担当医師への情報提供、意見交換を行っている。全国疫学調査の際、主治医のメールアドレスの登録を進め、継続的に免疫不全症に関する最新の情報提供を行い、この疾患に対する医療水準を向上させている。患者家族

会との連携を深め、講演会や相談会を実施した。

IV. 研究危険情報

特になし。

V. 知的財産権の出願・登録状況

特になし。

VI. 研究発表

巻末に記載のとおり。