

ケンスにて変異陰性の新規 CINCA 症候群 10 人中 4 人に NLRP3 体細胞モザイク変異を検出した。変異アリル頻度は 5.8%~16.8%であった。

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.* 2011: 31 (968-976)

Patient ID	Amplicon #	Variation		% Variation frequency		P-value	
				Forward	Reverse	Forward	Reverse
P1	Exon3_2	c.907G>C	p.Asp303His	7.12	11.56	3.0E-44	1.7E-84
P2	Exon3_5	c.1699G>A	p.Glu567Lys	5.94	5.79	2.0E-69	8.9E-47
P3	Exon3_5	c.1699G>A	p.Glu567Lys	18.28	15.33	0.0E+00	1.0E-312
P4	Exon3_2	c.906C>A	p.Phe302Leu	9.78	9.70	1.7E-86	2.2E-122

#### D. 考察

ゲノム混合試験と実際の新規検体において NLRP3 体細胞モザイクが検出可能であることにより、次世代シーケンサを用いた NLRP3 体細胞モザイク診断が有用であることが示された。CINCA 症候群と同じく NLRP3 の機能獲得型変異で発症する家族性寒冷蕁麻疹や Muckle-Well 症候群においても NLRP3 体細胞モザイク症例の有無を検索していく予定である。

#### E. 結論

次世代シーケンサーをもちいて新規の変異陰性 CINCA 症候群の 10 人中 4 人において NLRP3 体細胞モザイクを検出可能であった。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 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.* 2011: 94 (285-90)
- Ishimura M, Takada H, Doi T, Imai K, Sasahara Y, Kanegane H, Nishikomori R,

- Imamura M, Kawai T, Okada S, Izawa K, Takachi T, Iwabuchi H, Yoshida S, Hosokai R, Kanegane H, Yamamoto T, Umezu H, Nishikomori R, Heike T, Uchiyama M, Imai C : Disseminated BCG infection mimicking metastatic nasopharyngeal carcinoma in an immunodeficient child with a novel hypomorphic NEMO mutation. *J Clin Immunol.* 2011: 31 (802-810)
- 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.* 2011: 63 (3625-3632)
- 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*. 2011; 118 (1225-1230)

- Tahara M, Sakai H, Nishikomori R, Yasumi T, Heike T, Nagata I, Inui A, Fujisawa T, Shigematsu Y, Nishijima K, Kuwakado K, Watabe S, Kameyama J : Patient with neonatal-onset chronic hepatitis presenting with mevalonate kinase deficiency with a novel MVK gene mutation. *Mod Rheumatol*. 2011; 21 (641-645)
- 酒井秀政、平家俊男 : 日本における高 IgD 症候群の診断と展望. *日本臨床免疫学会雑誌* 2011; 34 (382-387)

## 2. 学会発表

- K. Izawa, A. Hijikata, R. Nishikomori, O. Ohara, J. Abe, N. Tanak, M. K. Saito, R. Goldbach-Mansky, I. Aksentijevich, T. Kawai, T. Yasumi, T. Nakahata, T. Heike: DIAGNOSIS OF NLRP3 SOMATIC MOSAICISM IN CINCA/ NOMID PATIENTS USING NEXT- GENERATION SEQUENCING: Poster Session, Board P292: 18th European Pediatric Rheumatology Congress, September 14-18, 20011. Bruges, Belgium
- R. Nishikomori, N. Tanikaze, K. Izawa, M. K. Saito, R. Goldbach-Mansky, I. Aksentijevich, G. de Saint Basile, B. Neven, J. Frenkel, M. Van Gijn, J. I. Arostegui, J. Yague, T. Morimoto, M. Sakuma, N. Kambe, T. Yasumi, T. Kawai, A. Pontillo, K. Oshima, H. Takada, T. Imagawa, R. Merino, M. Ibanez, T. Nakahata, T. Heike, O. Ohara: HIGH INCIDENCE OF NLRP3 SOMATIC MOSAICISM IN CHRONIC INFANTILE NEUROLOGICAL CUTANEOUS AND ARTICULAR SYNDROME PATIENTS: A REPORT FROM AN INTERNATIONAL MULTICENTER COLLABORATIVE STUDY: Oral Session, OP0142: Annual European Congress of Rheumatology

EULAR 2011, May 25 - 28, 20011. London, United Kingdom

- 井澤和司、西小森隆太、八角高裕、平家俊男、土方敦司、小原 収: Rapid detection of NLRP3 somatic mosaicism using next-generation sequencing: 第 56 回日本人類遺伝学会・第 11 回東アジア人類遺伝学会 共同大会: 2011 年 11 月 9 日~12 日, 千葉
- 田中尚子、井澤和司、齋藤 潤、作間未織、大嶋宏一、小原 収、西小森隆太、森本 剛、中畑龍俊、平家俊男 : NLRP3 体細胞モザイクは CINCA 症候群の 25% 以上に認められる; 第 114 回日本小児科学会学術集会, 2011 年 8 月 12 日~14 日, 東京.
- 田中尚子、井澤和司、西小森隆太、神戸直智、河合朋樹、酒井秀政、八角高裕、平家俊男 : NLRP3 体細胞モザイクは CINCA 症候群の 25% 以上に認められる; 第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 2011 年 7 月 18 日~20 日, 神戸
- 井澤和司、西小森隆太、阿部純也、酒井秀政、谷風尚子、村田佑樹、河合朋樹、八角高裕、平家俊男、平城 徹、平城直子、大嶋勇成: 寒冷刺激による発熱と凍瘡を認めた Aicardi-Goutieres syndrome の 1 例: 第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 2011 年 5 月 14 日~15 日
- 田中孝之(京都大学 iPS 細胞研究所), 齋藤潤, 西小森隆太, 平家俊男, 中畑龍俊: 患者特異的 iPS 細胞を用いた CINCA 症候群体細胞モザイクでの病態の再現と解明: 第 114 回日本小児科学会学術集会: 2011 年 8 月 12 日~14 日, 東京

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

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

## IL-1 $\beta$ 活性化における dipeptidyl peptidase I (Cathepsin C) の *in vivo* での役割

河野 肇 (帝京大学医学部内科学)  
柳田たみ子 (帝京大学医学部内科学)  
高山 真希 (帝京大学医学部内科学)  
菊地 弘敏 (帝京大学医学部内科学)  
Kenneth L Rock (UMass Med School)  
Zubin Patel (UMass Med School)

### 研究要旨

無菌的な微粒子や死細胞への炎症反応は、それぞれ様々な疾患と関係しており医学的にも重要性が高いと考えられている。これらの炎症を引き起こす物質はそれぞれ大きく異なり、その受容体等も様々であるが、最終的にはサイトカイン IL-1 $\beta$  の成熟活性化の共通経路を経ることが知られている。*in vitro* においては活性型 IL-1 $\beta$  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 $\beta$  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 $\beta$  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。

### A. 研究の目的

死細胞やシリカ結晶やピロリン酸カルシウム結晶の様な微粒子は生体内において刺激物となり著明な炎症反応を引き起こす。その刺激物はさまざまであるが、最近その炎症反応は IL-1 受容体の活性化という共通経路をとることが明らかとなってきた。さらに、今日臨床で使用されている IL-1 受容体阻害薬がこれらの炎症反応を減弱させることも判明した。このように、サイトカイン IL-1 がこの炎症反応に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。IL-1 には2つの全く異なるサイトカイン、IL-1 $\alpha$  と IL-1 $\beta$  があり、これらはいずれも IL-1 受容体 type 1 に結合し信号伝達を行う。これら死細胞もしくは結晶などの微粒子からの炎症反応に

は *in vivo* では IL-1 $\beta$  が重要であることも判明しており、実際 *in vitro* でもマクロファージは IL-1 $\beta$  産生を行うが、IL-1 $\alpha$  も重要な役割を果たしていることが判明しており、いずれが欠けても炎症反応は惹起しないことが知られている。IL-1 $\beta$  は翻訳されタンパク合成された全長は非活性型であるが、その中程をタンパク分解酵素で切断され、活性型となる。この成熟過程を行う caspase-1 の活性化に多分子複合体、inflammasome が関与していることが明らかとなった。*in vitro* においては inflammasome の活性化が IL-1 $\beta$  の切断成熟に絶対的に必要である。inflammasome の成員である ASC, NLRP3 を欠失したマクロファージでは IL-1 $\beta$  の活性化は全く認められない。しかしながら *in*

vivo においてはこれら inflammasome のコンポーネントを欠失したマウスにおいても IL-1 $\beta$  依存性の炎症反応は必ずしも減弱しないことが明らかとなっており、この in vitro と in vivo の乖離は問題となっていた。

inflammasome 経路以外にも proIL-1 $\beta$  を活性化型 IL-1 $\beta$  とするプロテアーゼがあることは知られている。代表的なものとして好中球セリンプロテアーゼが挙げられる。elastase, cathepsin G, proteinase 3 などである。これらの酵素は in vitro において精製された proIL-1 $\beta$  から活性化型 IL-1 $\beta$  を生成することが確認されている。しかし in vivo においてどの程度これらの酵素が IL-1 $\beta$  産生に関与しているかは不明である。

我々は以前の報告において IL-1 $\beta$  依存性炎症反応において caspase-1 非依存性の事象を発見している。このことから、今回の報告では他の IL-1 $\beta$  活性化酵素の候補についてその in vivo における機能を検討した。

## B. 研究方法

### 試薬、抗体

抗 Ly-6G (clone 1A8) 抗体は BD Bioscience、抗 7/4 抗体は Serotec、抗 L-1 $\beta$  抗体は Leinco Technologies (St. Louis, MO) のものを使用した。7-AAD は Molecular probe、Recombinant MIP-2、human IL-8 ELISA kit は PeproTech (Rocky Hill, NJ) のものを使用した。Silica crystal (MIN-U-SIL 15) は U.S. Silica (Frederick, MD) のものを使用した。

### マウス、細胞

Wild type C57BL/6 マウスは Jackson Laboratories あるいは Japan SLC, Inc. から得た。Caspase-1 欠損マウス、cathepsin C 欠損マウス、IL-1 $\beta$  欠損マウスと IL-1 receptor については以前報告した通りである。本動物実験研究については UMass と帝京大学の動物実験に関する倫理委員会で承認されている。

### ネクローシス EL4 細胞の調整

ネクローシス EL4 細胞は、EL4 細胞を 5 回 PBS で wash し、 $1 \times 10^7/50 \mu\text{L}$  で調整し、45°C で 10 分加熱し、その後 37°C で 5 時間培養して得た。

### 腹腔内への好中球、単球の遊走能の定量

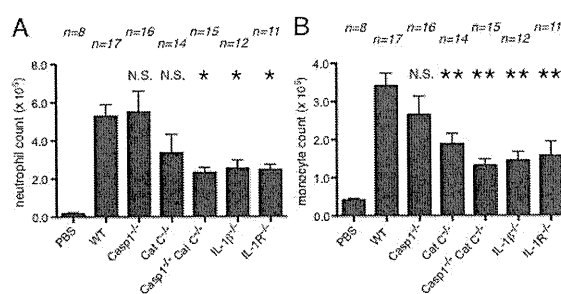
マウスにシリカ結晶あるいはネクローシス EL4 細胞を腹腔内投与し、4 時間および 16 時間後に腹腔内を洗浄し細胞を回収した。Ly-6G 陽性の好中球および Ly-6G 陰性の単球の数をフローサイトメーターでカウントした。

## C. 研究結果

### IL-1 依存性の無菌性炎症には Caspase-1 非依存性経路が存在する。

我々はこれまでに、IL-1 $\beta$  依存性の死細胞に対する無菌的炎症はそのピーク(炎症惹起 16 時間後)において、caspase-1 非依存性であることを報告した。その後の実験によると、caspase-1 への部分的依存性があるがケースも認められた。これら実験結果が異なる理由は明らかではないが、刺激後の時間経過によっては IL-1 $\beta$  活性化の役割分担があることを想定し、より早期における caspase-1 の役割を検討することとなった。

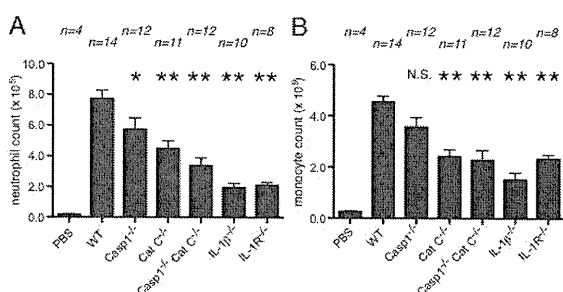
Figure 1



細胞死に伴う炎症反応は腹腔アッセイにおいては死細胞注射後 4 時間から明らかな好中球のリクルートが認められた。Caspase-1 欠失マウスにおいてネクローシス EL4 細胞を注射後

に、好中球の遊走をフローサイトメトリーで計測したところ、野生型 C57BL/6 マウスと同等であることが判明した(Figure 1)。対照的に、IL-1R 欠失マウス、IL-18 欠失マウスにおいてはこれらの好中球遊走は著明に減弱していた。次に我々は他の無菌的 IL-1 依存性炎症反応のモデルとしてシリカ結晶に対する炎症反応を観察した。in vitro においてはシリカ結晶に対する炎症反応は完全に caspase-1 依存性であることが判明している。腹腔にシリカ結晶を注射して観察する炎症反応においては、IL-18 欠失マウスは IL-1 $\alpha/\beta$  共欠失マウスと同等に非常に好中球性炎症は減弱していた(figure 2, 3)。それに対して、注射後 4 時間において、caspase-1 欠失マウスにおいてはこのシリカ結晶に対する炎症反応に減弱は認められなかった(Figure 3)。同様に、注射後 4 時間ではその炎症反応は非常にわずかに減弱が認められるのみであった(Figure 2)。これらの結果から、in vivo においては IL-18 依存性無菌的炎症反応に大部分 caspase-1 非依存性であることが判明した。

Figure 2



### 無菌性炎症における cathepsin C の役割

In vitro においては数々の酵素が pro-IL-18 を切断して活性型、成熟型 IL-1 とすることが知られているが、in vivo のデータは非常に乏しい。我々は、これらの酵素の in vivo における役割を検討したいと考えたが、これらすべてを欠失しているマウスは存在しない。しかし、これらのプロテアーゼ自身には共通の活性化経

路がある。

Figure 3

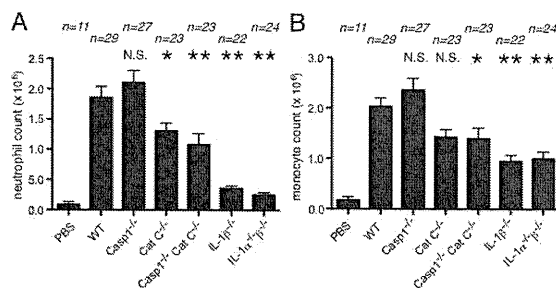
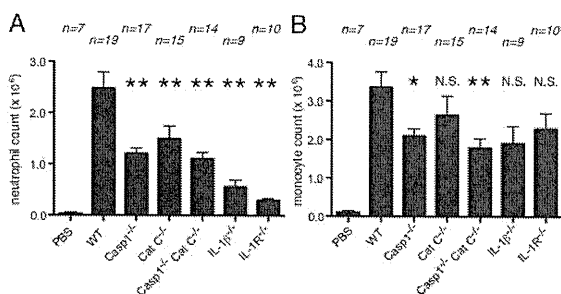


Figure 4



好中球セリンプロテアーゼである cathepsin G、elastase、proteinase 3 には翻訳時にリーダー配列があり、それらはこれらの酵素をライソゾーム経路へと導く。これらリーダー配列が ER で取り除かれた後にも N 末端には 2 アミノ酸が余分に残っており、これら酵素を非活性状態に保つことが知られている。N 末端の自己制御性 2 アミノ酸は、そのちに cathepsin C によって取り除かれ、これら酵素は活性型となる。これらの機構により cathepsin C 欠失マウスはこれらすべての好中球セリンプロテアーゼ活性を失うことになる。今回我々はこの caspase 1 非依存性、IL-18 依存性経路における cathepsin C の役割を検討した。

シリカ結晶に対する炎症反応は cathepsin C 欠失マウスにおいて、4 時間目においても、16 時間目においても減弱が認められた(Figure 2, 3)。同様に死細胞に対する炎症反応も早期においても、晩期においても減弱が認められた(Figure 1,4)。これらの炎症減弱の程度は IL-18 欠失マウスには及ばないものであった(Figure

1,2,3,4)。

### cathepsin C と caspase 1 は協同的に無菌性炎症反応を惹起する

cathepsin C 欠失マウスにおいて、IL-18 依存性無菌的炎症反応が依然部分的に保たれていることより、生体内において pro-IL-18 を切断する他の酵素があることとなる。これらのマウスにおいては caspase 1 があることから、われわれはこれらの二重欠失マウスを作成することとした。

cathepsin C と caspase 1 共欠失マウスにおいては死細胞に対する炎症反応はその早期において IL-18 欠失マウスとほぼ同等となるまで減弱が認められた(Figure 1)。しかし、この今日欠失マウスにおける炎症反応の減弱は炎症のピークにおいては認められなかった(Figure 4, N.S. by one-way ANOVA with a Bonferroni test, Casp1<sup>-/-</sup> vs Casp1<sup>-/-</sup>CatC<sup>-/-</sup>)。シリカ結晶に対する炎症反応においても、単欠失マウスに比較して、4 時間後、16 時間後双方において炎症反応の減弱が認められた(Figure 2, 3)。しかしこれらの炎症反応は IL-18 欠失マウスの水準までは減少しなかった (P<0.01 by one-way ANOVA with a Bonferroni test, Casp1<sup>-/-</sup>CatC<sup>-/-</sup> vs IL-18<sup>-/-</sup>, Figure 3)。これらの結果から、caspase 1 や cathepsin C により活性化される酵素以外にも IL-18 活性化に関与している酵素があることが明らかとなった。

#### D. and E. 考察と結論

本研究においては、in vivo において caspase 1 非依存性、IL-18 依存性の無菌的炎症反応が存在していることを示した。その程度刺激に用いた炎症惹起性物質やアッセイ時間により異なるが、いずれにしてもかなりの部分が caspase-1 非依存性であることが明らかとなった。この結果は最近の in vitro における炎症反

応が主に inflammasome 依存性 caspase 1 により IL-18 の切断および成熟化がなされているとの考えからは明らかに異なる。今回、in vivo における状況は明らかにもっと複雑であることが明らかとなった。

今回我々の in vivo の結果が in vitro のこれまでの実験と異なるのは、おそらく炎症反応の参画している細胞種の違いによる部分を想定する。大多数の in vitro 実験においてはマクロファージが用いられている。もちろん、in vivo においてもマクロファージは非常に重要な IL-1 産生細胞種であるが、われわれは特にその IL-1 $\alpha$  産生が無菌的炎症反応に重要であることを明らかにしている。一方、マスト細胞、好中球、単球いずれも IL-18 産生能を有しており、これらの炎症反応において関与している可能性がある。しかし、これらのうち好中球や単球は組織自体にはおらず流血中からリクルートされる。しかしわれわれの炎症惹起4時間後のアッセイから分かる通り、その炎症早期において局所にある細胞群が活性型 IL-18 産生に関与している可能性が高い。

今回えられたデータからは、cathepsin C が活性型 IL-18 の産生に関与していることが裏付けられた。cathepsin C はおそらく好中球セリンプロテアーゼの活性を制御することにより、IL-18 の産生を制御しているものと考えられる。しかし、今回の研究では、in vivo のどこにおいて Pro-IL-18 が活性型へと変換されているかは明らかではない。Pro-IL-18 は細胞質に存在する一方、好中球セリンプロテアーゼは ER などの細胞内小器官に存在するためである。現時点では、細胞外に放出された pro-IL-18 に細胞外で働く可能性を考えている。しかし、一般に IL-1 の細胞質からの放出には inflammasome が必要であることが判明しており、また実験結果から cathepsin C はその炎症早期から必要であることより pro-IL-18 の活性化は細胞質内で起きている可能性もあると考えられる。

**F. 研究危険情報**

なし

**G. 研究発表**

なし

**H. 知的財産権の出願・登録状況、参考文献**

なし

# Infliximab による外胚葉異形成免疫不全症難治性腸炎の治療

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 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)

平家 俊男 (京都大学大学院医学研究科発達小児科学)

## 研究要旨

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患者を経験した。患者は生後 TNF- $\alpha$ や IFN- $\gamma$ 産生が認められず、易感染性を示していたが、4歳から種々の自己炎症性疾患 (BOOP や関節炎、さらに炎症性腸炎) を起こしてきたため、TNF- $\alpha$ 産生能を再検討したところ、一部のリンパ球で活性化が認められた。その原因として NEMO 遺伝子の復帰変異が確認された。Nenci らの腸管特異的また皮膚特異的 NEMO KO マウスを用いた腸疾患および皮膚疾患などの報告から、NEMO 変異による難治性腸疾患では、NEMO 復帰変異による TNF- $\alpha$ 産生能細胞が腸炎の病因となっているのではないかと考え、定期的な抗 TNF- $\alpha$ 抗体 (Infliximab) 投与を行った。結果、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、同時に皮膚の状態の改善 (乾燥肌や固い手掌の改善と両脇にやや湿り気を感じられるなど) も認めている。NEMO 変異による臨床症状は、NEMO 遺伝子の復帰変異による自己炎症性疾患という病態であり、難治性腸疾患と同様に生物学的製剤が有効であると考えられた。

## A. 研究目的

炎症性腸疾患 (inflammatory bowel disease: IBD) は慢性持続性の、再発を繰り返し、完全緩解が難しい腸炎である。潰瘍性大腸炎 (Ulcerative colitis: UC) とクローン病 (Crohn's disease: CD) がその代表とされる。IBD の病因として、免疫学的異常、遺伝学的異常、環境因子などがあげられ、複数の原因が複雑に絡み合いながら病態を形成しているものと想定されている。近年、小腸炎を惹起する IL-2 KO mouse(1), IL-10 KO mouse(2,3) などが開発され、IBD の態解明も進みつつある。

外胚葉異形成免疫不全症 (Anhidrotic ectodermal dysplasia with immune-deficiency: EDA-ID) は、歯牙欠損、粗な頭髪、発汗減少など外胚葉異形成所見と、免疫不全症候群を呈するまれな遺伝性疾患である (4) 。*IKBK*G 遺伝子にコードされている NEMO ( Nuclear factor kappa-B essential modulator) 変異により I $\kappa$ B リン酸化、そして NF $\kappa$ B 活性化が阻害されるため、LPS や

TNF- $\alpha$ に対する反応性低下、B 細胞クラススイッチ異常が起こり、患者に高 IgM 症候群様の低ガンマグロブリン血症や莢膜保有菌、抗酸菌、細胞内寄生菌などに対する易感染性が起こるとされている。

今回我々は易感染性を示し、頻回の下痢と腹痛を伴う難治性炎症性腸疾患を合併した患者が、NEMO 遺伝子異常を伴う EDA-ID であり、NEMO 遺伝子異常の復帰変異がおこっていることを明らかにした。EDA-ID 患者では約 2 割で頻回の下痢と腹痛を伴う難治性炎症性腸疾患が合併すると報告されており、免疫学的検討と TNF- $\alpha$ 抗体 (Infliximab : IFX) 治療を試みたので、報告する。

## B. 研究方法

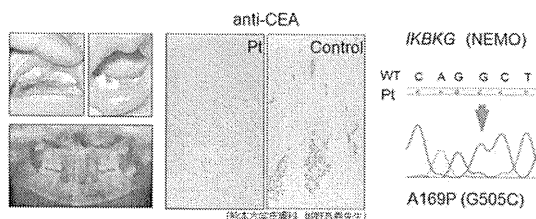
症例: 11 歳男児. 主訴: 腹痛, 頻回の下痢, 現病歴: 在胎 41 週 6 日出生. 生直後より白血球増多 (3 万/ $\mu$ L) を指摘された. 幼少より種々の感染症 (生後 2 ヶ月で水痘, 生後 3 ヶ月で PRSP 髄膜炎, 生後 5 ヶ月で帯状疱疹) や歯牙欠損, 粗な頭髪,



発汗減少など外胚葉異形成所見(図 1-A,-B)に加え、4歳より膠原病を疑わせる閉塞性細気管支炎(BOOP)、血管炎様紅斑、5歳で多関節炎を認め、感染症予防と抗免疫療法(プレドニゾロン、シクロスポリン(CyA)、メソトレキセート(MTX))併用療法を行っていた。外胚葉異形成症にIFN $\gamma$ 産生能低下を伴う細胞性免疫不全症を合併している事から、EDA-IDが疑われ、IKBK $G$ 遺伝子変異同定(G505C, A169P)により確定診断された(図 1-B)。8歳より間欠的腹痛、頻回下痢、痔瘻、血管炎様紅斑が出現、ステロイドパルス療法にて一時軽快したが、その後も症状が持続したため、9歳で精査加療目的の入院となった。母が遺伝子検索の結果、保因者であった。入院時、身長体重は102.1cm(-5.8SD)、19.4kgの低身長低体重で、排便7~11回/日であった。

図 1

EDA-ID患者的特徴と遺伝子解析結果



免疫検査:

1) TNF- $\alpha$  +/CD4 Tおよび /CD8 T細胞の確認(図 4)

患者抹消血リンパ球刺激(1  $\mu$ g/mL ionomycin、25 ng/mL PMA、10  $\mu$ g/mL brefeldin A)後4時間培養して、FACS解析を行った。TNF- $\alpha$  +/CD14+細胞はLPS(1  $\mu$ g/mL)で4時間培養後にFACS解析を行った。

2) 変異 NEMO 遺伝子の機能解析(図 3-D):

正常および変異 NEMO 遺伝子を蛋白発現ベクター(p3xFLAG-CMV14:Sigma)にサブクローニングし、NEMO 欠損線維芽細胞に、NF- $\kappa$ B reporter plasmid (pNF- $\kappa$ B-Luc)と一緒にFuGENE HDを用いて、共感染させ、12時間培養後に、LPS(15ng/ml)で4時間時激して、ルシフェラーゼ活性を測定した。

3) 復帰変異の確認(図 5):

IFX使用約2年後に1 $\mu$ g/mL PHA 1day +10 U/mL recombinant human IL-2 8daysでリンパ球を刺激し、NEMO 遺伝子の解析を行った。

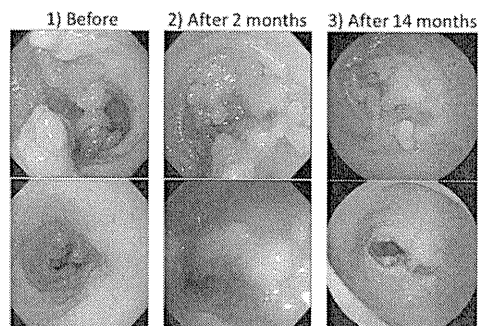
C. 結果

1) 消化管のコロンファイバー検査結果:

大腸内視鏡ではS状結腸に縦走潰瘍性病変や、S状結腸~下行結腸移行部に炎症性ポリープ様病変もあり。その中枢側は高度狭窄と縦走潰瘍所見が見られた。生検組織病理では粘膜固有層の浮腫、充血があり、びまん性の形質細胞浸潤と少数の好酸球を認めるが、好中球、肉芽腫形成、陰窩炎などは認められなかった(図 2-1,-2,-3)。

図 2

IFX投与前後の大腸内視鏡所見



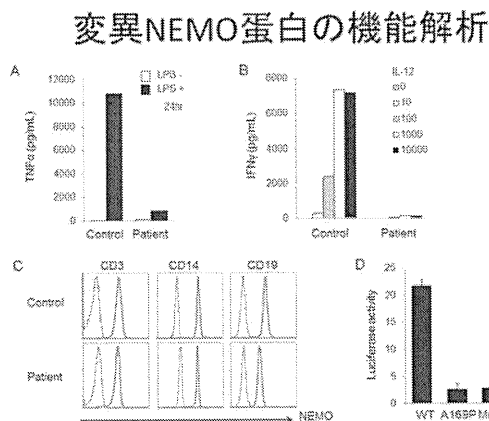
2) 大腸粘膜組織の免疫染色結果:

粘膜固有層にCD3陽性T細胞(CD4とCD8は優位性なし)を認め、一部粘膜上皮内への侵入が認められた。CD68陽性マクロファージ、CD79a陽性CD20陰性B細胞(恐らく形質細胞)も認められた。これらの細胞ではTNF- $\alpha$ が陽性であった。

3) 抹消血による免疫学的解析結果:

生後8ヶ月時のリンパ球機能検査では、図 3-A,-Bの様に、LPS刺激によるTNF- $\alpha$ 産生も、IL-2刺激によるIFN- $\gamma$ 産生も誘導できなかった。

図 3



しかし、後者の活性は生後 11 ヶ月には CD8 および CD56+細胞では 70-80%と何故か正常化していた(表 1)。FACS 検査による NEMO タンパク質の発現は正常であった(図 3-C)。

表 1

### Th1/Th2比の推移

Age	IFN $\gamma$ /IL-4		
	CD4 (%)	CD8 (%)	CD56 (%)
8 months	1.14	8.83	2.00
11 months	3.18	70.40	66.29
3 year 11 months	11.89	65.48	82.79
Healthy control	15	60-80	80-90

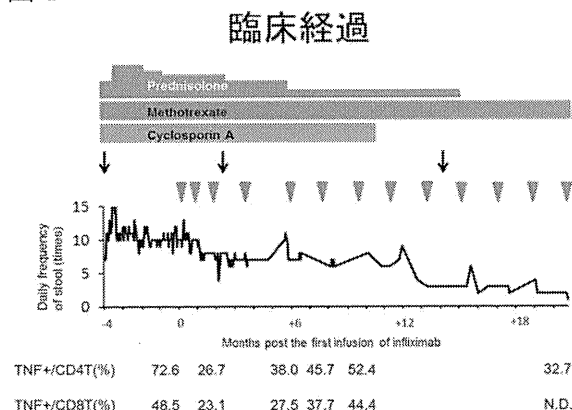
そこで、確認のため、正常および変異 NEMO 遺伝子を p3xFLAG-CMV14 vector (Sigma)にサブクローニングし、NEMO 欠損線維芽細胞に、NF- $\kappa$ B reporter plasmid (pNF- $\kappa$ B-Luc)と共感染させ、ルシフェラーゼ活性を測定したが、変異クローンでは luciferase 活性は認められなかった(図 3-D)。

#### 4) 臨床経過および治療経過(図 4)

縦走潰瘍所見が得られたことより Crohn 病合併と判断した。ステロイド, CyA, MTX 併用療法を行ったが、無効で、むしろ胸椎圧迫骨折所見が認められた。そこで倫理委員会の承認も得て、インフリキシマブの投与を開始した。その日から、腹痛の軽減および便回数減少も得られた。3 回目(6 週)投与後に粘膜縦走潰瘍の

改善, 粘膜発赤の軽減が認められた。開始 14 ヶ月後にはポリープ病変と狭窄は残存するが、粘膜発赤はほぼ消失した(図 2)。

図 4



#### 5) インフリキシマブ投与前後の免疫学的検査経過

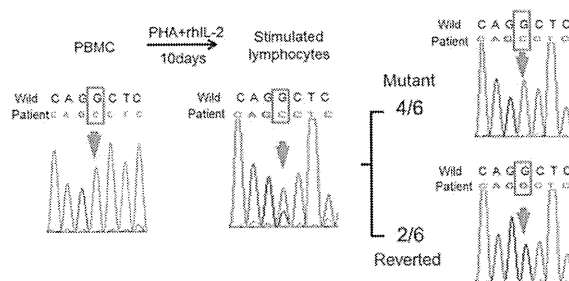
インフリキシマブ 5mg/kg を 0, 2, 6 週に投与したところ、6 週(3 回目)直前で TNF $\alpha$ +/CD4T が 26.73%と大幅に減少した。以降 TNF $\alpha$ 陽性 T 細胞割合は 30-50%前後を推移した(図 4)。

#### 6) 復帰変異の確認(図 5):

IFX 使用約 2 年後の患者リンパ球を PHA + rhIL-2 で刺激し、NEMO 遺伝子の解析を行い、505 番目の塩基に G/C のピークを認めた。この部分をクローニングし、6 個のクローンの塩基配列決定を行ったところ、2 個の C(変異)と 4 個の G(復帰変異)クローンが同定された。

図 5

### Reversion 解析: Infliximab 開始 24 ヶ月後



#### D. 考察

2007年に Nenci らは、腸管特異的また皮膚特異的 NEMO KO マウスで腸疾患および皮膚疾患が自然発症するが、TNF $\alpha$  受容体とのダブルノックアウトマウスでは発症が抑制されることを報告し、本病態に TNF $\alpha$  が関与することを示した(5、6)。腸管特異的 NEMO KO マウスでは、腸上皮バリアは腸内細菌感染により破綻し、粘膜下の正常免疫細胞により炎症が惹起されると考えられているが、EDA-ID では白血球機能も損なわれ LPS に対する反応も著減しているため、攻撃因子としての TNF $\alpha$  産生細胞が欠けているはずだが、我々の症例では、むしろ、活性化 T 細胞 (CD3+/HLADR+) も 15.6% と増加しており、TNF $\alpha$ +/CD4T が 72.59% (成人炎症性腸疾患患者: 40~70%) と高値であった(図 4)。Nishikomori らは EDA-ID 症例の T, B, NK 細胞に復帰変異した細胞を確認し、復帰変異細胞のサイトカイン産生能が増加していることを示し(7)、我々も患者末梢血 T 細胞から NEMO 遺伝子の reversion が起こっている事を確認した(8)。

復帰変異についてはこれまで、X-linked severe combined immunodeficiency, Adenosine deaminase deficiency, Omenn's syndrome (RAG-1), Wiskott-Aldrich syndrome などの疾患で知られていたが、復帰変異した細胞の出現により、症状の軽快がほとんどであった。今回我々の症例(X-EDA-ID)では、復帰変異した細胞が難治性腸炎の病因になっており、抗 TNF 抗体(インフレキシマブ)を用いた治療を通じて復帰変異したリンパ球が自己を障害していることを確認することができたと考えている。

インフレキシマブ投与前は高値だった TNF $\alpha$  陽性 T 細胞が、投与後著減し、症状も改善したことから、本患者では NEMO 遺伝子の復帰変異により TNF $\alpha$  産生可能となった TNF $\alpha$  陽性 T 細胞が関与したことを強く示唆した症例である。

#### E. 結論

今回の検討から、NEMO colitis ではその病因として、変異 NEMO の復帰変異(reversion)による TNF $\alpha$  産生 T 細胞の存在が炎症の起こりやすく持続する過剰炎症症候群の病態を作っている

のではないかと考えられた。今後も注意深い観察が必要である。

#### 参考文献

1. Kühl AA, et al., J Leukoc Biol. 81(1):168-75. 2007
2. Balish E, Warner T. Am J Pathol. 160(6):2253-7. 2002
3. Larmonier CB, et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. Mar 17, 2011
4. Döflinger, R., et al., Nature Genetics 27: 277-285. 2001
5. Nenci A, et al., Nature. 446:557-61. 2007
6. Nenci A, et al., Human Molecular Genetics 15: 531-542. 2006
7. Nishikomori R, et al., Blood. 103:4565-72. 2004
8. Mizukami T, et al., J Clin Immunol. 2011 (in press)

#### G. 研究発表<2011年度論文>

1. Successful Treatment with Infliximab for Inflammatory Colitis in a Patient with X-linked Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with Immunodeficiency. Mizukami T, Obara M, Nishikomori R, Kawai T, Tahara Y, Sameshima N, Marutsuka K, Nakase H, Kimura N, Heike T, Nunoi H. J Clin Immunol. 2011 Oct 13. In press
2. Comparison of the epidemiology of anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis between Japan and the U.K. Fujimoto S, Watts RA, Kobayashi S, Suzuki K, Jayne DR, Scott DG, Hashimoto H, Nunoi H. Rheumatology (Oxford). 2011 Oct;50(10):1916-20. Epub 2011 Jul 28.
3. Multicenter prospective evaluation of a novel rapid immunochromatographic diagnostic kit specifically detecting influenza A H1N1 2009 virus. Kawachi S, Matsushita T, Sato T, Nunoi H, Noguchi H, Ota S, Kanemoto N, Nakatani K, Nishiguchi T, Yuge A, Imamura H, Kitajima H, Narahara K, Suzuki K, Miyoshi-Akiyama T, Kirikae T.

J Clin Virol. 2011 May;51(1):68-72. Epub 2011 Feb 15.

4. Interleukin 12 and myeloperoxidase (MPO) in Vietnamese children with acute respiratory distress syndrome due to Avian influenza (H5N1) infection. Phung TT, Luong ST, Kawachi S, Nunoi H, Nguyen LT, Nakayama T, Suzuki K. J Infect. 2011 Jan;62(1):104-6.
5. C-MYC rearrangement may induce an aggressive phenotype in anaplastic lymphoma kinase positive anaplastic large cell lymphoma: Identification of a novel fusion gene ALO17/C-MYC. Moritake H, Shimonodan H, Marutsuka K, Kamimura S, Kojima H, Nunoi H. Am J Hematol. 2011 Jan;86(1):75-8.

H. 知的財産圏の出現・登録状況、参考文献  
なし

I. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 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

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)  
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)

### 研究要旨

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。MonoMAC 症候群に対する移植について、検討を交えて報告する。

### A. 研究の目的

ウイルスや真菌、マイコバクテリウム感染を繰り返す免疫不全症候群として NK, B, 単球減少症が最近報告されている。本疾患は血液悪性疾患をたびたび合併することが知られており、Mono MAC 症候群 (monocytopenia and mycobacterial infection syndrome) と呼ばれている (Blood.2010;115:1519-1529)。また近年、GATA2 遺伝子の変異が MonoMAC 症候群の発生に関与していることが報告されている。 (Blood.2011; 118(10):2653-2655)。私たちは、MonoMAC 症候群の一例に対し、非血縁者間骨髄移植を施行したため、経過を交え報告する。

### B. 研究方法

患者は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 9 歳男児である。デキサメサゾンで治療を開始したが、反応が乏しく、day3 にシクロスポリン 1mg/kg/day を加え、発熱は一時的に改善し、フェリチン

は 625 mg/dl と改善した。day16 から再度、発熱が 6 日間続き、フェリチンは 15290 mg/dl と再上昇、AST/ALT 172/205, LDH 921 U/l と上昇が見られたため、HPS の再燃と診断。day21 から血漿交換を 3 日間行った。しかし効果は乏しく、LDH 759 U/l, フェリチン 9345mg/dl にとどまった。day25 よりメチルプレドニゾロン (mPSL) 30mg/kg を 3 日間施行し発熱の改善を認め、2クール施行したのちに、PSL1 mg/kg を後療法として使用し炎症反応は鎮静化した。

発症時血中の VZV-DNA  $1.2 \times 10^4$  copies/ml、HHV7-DNA  $2.2 \times 10^4$  copies/ml であり、またのちに CMV-DNA  $6.2 \times 10^3$  copies/ml と上昇したが、ビダラビン、バラシクロビル、アシクロビル、ガンシクロビルの治療に効果乏しくウイルス DNA は減少しなかった。骨髄生検、肝生検、皮膚生検を行い、それぞれの検体でウイルス分離、感受性試験を試みたが、分離できなかった。

原発性免疫不全症の鑑別を行ったが、

骨髄にNK細胞とB細胞は減少しており、またどの分化段階の単球も存在しなかった。その後も皮膚の蜂窩織炎とニューモシスチス肺炎に罹患するなど、易感染性がみられた。前回のHPS治療であるmPSL30mg/kg終了後、PSLの漸減中止を4回試みたが、漸減に伴い発熱が遷延し、フェリチン、LDHの増加と汎血球減少が進行し、血球貪食症候群への移行がみられたため、PSLを中止できなかった。また、同時期に調べたT cell receptorの遺伝子再構成の結果では、血液でT細胞受容体 $\gamma$ , $\delta$ 鎖に、皮膚で $\beta$ 鎖にoligoclonalな遺伝子再構成を認め、monoclonalではないものの、腫瘍化が懸念される状態であると判断した。

以上のより、ウイルスが分離できないことから活動的なウイルス感染はないと判断し、難治性HPSを発症した原因不明のNK,B,単球減少症に対して非血縁者間骨髄移植を施行した。

全身放射線照射 (TBI) 2Gy x 2 days + Fludarabine 25 mg/m<sup>2</sup> x 5days + ATG (抗胸腺細胞グロブリン) 1.25 mg/kg x 2 days + Melphalan 40 mg/m<sup>2</sup> x 2 days を前処置として、HLA 6/6 allele match のドナーから、非血縁者間骨髄移植を実施した。有核細胞数は 2.0 x 10<sup>8</sup>/kg、CD34 陽性細胞は 1.1 x 10<sup>6</sup>/kg、GVHD 予防には tacrolimus + short methotorexate を用いた。生着は好中球 >500/ $\mu$ l を day21 に、Ret >1% を day28 に、plt >3X10<sup>4</sup>/ $\mu$ l を day23 に認めた。持続する単球減少症から、monoMAC 症候群の可能性を考え、移植後に行った GATA-2 変異解析で monoMAC 症候群と診断した

### C.研究結果

Day15に皮膚のStage1の急性GVHDがみられたが、PSL 1 mg/kgの投与によ

り、速やかに消失した。移植後 day21 に一時的に CMV 抗原血症がみられたが、GCV 投与により、速やかに消失した。移植前に見られた VZV,CMV,HHV7-DNA は移植後 day48 にはすべて消失した。移植後 2 ヶ月でドナー型 100%と、完全キメラを達成した。現在移植後 6 ヶ月経過しているが、骨髄で単球の分画を 8.2%、NK 細胞を 5.2%認め血球分画の改善を認めている。

### D.考察

monoMAC 症候群において、ウイルス DNA を 持続的に認めたまま、移植を行った報告はない。血球貪食症候群がコントロール不可能な例や、悪性腫瘍への移行が懸念される例では、移植により救命できる monoMAC 症候群が存在すると考えられる

### E.結論

VZV による HPS で発症した monoMAC 症候群に対し血中の VZV,HHV の 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。

### F.研究危険情報

なし

### G.研究発表

なし

### H.知的財産権の出願・登録状況

なし

## 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

金兼 弘和 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)  
Yang Xi (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)  
西田 直徳 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)  
宮脇 利男 (富山大学大学院医学薬学研究部小児科学)

### 研究要旨

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。これまで当教室で診断したわが国の 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。

### A. 研究目的

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であり、その原因は *SH2D1A* 遺伝子である。XLP の予後は不良であり、造血幹細胞移植 (HSCT) が唯一の根治的治療である。当教室ではフローサイトメトリーと遺伝子解析を組み合わせることでこれまでわが国の XLP-1 患者の同定を行ってきた。本研究ではわが国の XLP-1 患者の臨床的特徴と HSCT の成績を明らかとする。

### B. 研究方法

致死性伝染性単核症、悪性リンパ腫、低ガンマグロブリン血症などの臨床症状や家族歴から XLP が疑われた患者家族から文書による同意を得て、末梢血を採取し、当教室まで送付してもらった。単核球に分離後、フローサイトメトリー法にて細胞内 SAP 蛋白の発現を調べ、buffy coat から抽出した DNA を用いて *SH2D1A* 遺伝子の各エクソン近傍を増幅

し、ダイレクトシーケンスにて塩基配列を決定し、XLP-1 の診断を行った。XLP-1 と確定診断した患者さんについて各主治医から臨床情報を得て、後方視的な解析を行った。

### C. 研究結果

22 家系 33 例の XLP-1 が同定された。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の発症率は 18 例 (55%)、悪性リンパ腫あるいはリンパ増殖症の発症率は 7 例 (21%)、低ガンマグロブリン血症の発症率は 12 例 (36%) であった。それぞれの死亡率は 16/18 (89%)、3/7 (43%)、4/11 (36%) であり、発症率ならびに死亡率は 1995 年の XLP registry の報告とほぼ同様の結果であった。遺伝子変異はさまざまであり、R55X は 4 家系で認められたが、その他は大欠失、ミスセンス変異などさまざまな変異が認められた。臨床的特徴は 23 例 (約 70%) が 5 歳までに診断されたが、2 例は成人期に診断された。11 家系 (52%) が家族歴を有

していた。10例（30%）は経過中に2つ以上の臨床表現型を呈した。死亡例は32例中21例（66%）であり、すべての生存患者は移植後であった。EBウイルス感染との関与は全例ではなく、27例（82%）であり、2例ではEBウイルス関連ではない血球貪食性リンパ組織球症を発症した。

12例で造血幹細胞移植が行われた（表1）。

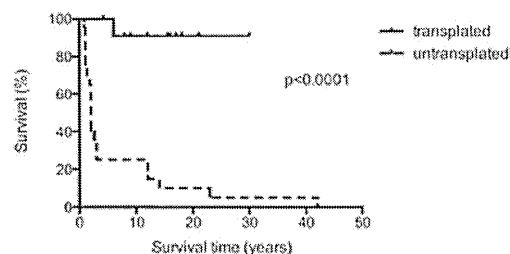


図1 XLP-1の移植患者と非移植患者における全生存率

表1 XLP-1患者に対する造血幹細胞移植

Pt ID	HSCT時の年齢	ドナー	ソース	前処置	GVHD予防	急性GVHD	慢性GVHD	転帰
2.2	7歳	MSD	末梢血	TBI/CY	CsA/sMTX	Grade I	extensive	生存
7.2	24歳	MSD	骨髄	BU/CY/ATG	CsA/sMTX	Grade II	extensive	生存
9.1	8歳	MUD	骨髄	BU/VP/CY	FK/sMTX	なし	なし	生存
9.2	6歳	mMFD	骨髄	TBI 6Gy/BU 4mg/kg	MMF/sMTX/mPSL	評価不能	評価不能	死亡
10.1	4歳	mMUD	骨髄	BU/CY/AraC	FK/sMTX	Grade II	extensive	生存
10.2	1歳	MUD	骨髄	BU/TAI 3Gy/Flu/CY/ATG	FK/sMTX	なし	なし	生存
11.3	8カ月	mMUD	末梢血	Flu/Mel/ATG/TAI 6Gy	FK/sMTX/mPSL	Grade II	なし	生存
14.1	10歳	MUD	骨髄	BU/CY	CsA/sMTX	Grade III	limited	生存
16.1	11歳	mMUD	骨髄	BU/TAI 3Gy/Flu/CY/ATG	FK/sMTX	なし	なし	生存
17.2	3歳	mMFD	骨髄	Flu/Mel/TBI 3 Gy	FK/sMTX	Grade I	なし	生存
18.1	7歳	MUD	骨髄	Flu/Mel/TBI 3 Gy	FK/sMTX	なし	extensive	生存
19.3	15歳	MUD	骨髄	Flu/Mel/TBI 3 Gy	FK/sMTX	なし	なし	生存

移植時の年齢は8か月から24歳であり、HLA一致血縁ドナーは2例のみであり、その他は非血縁ドナーあるいはHLA不一致血縁ドナーからであった。前処置もさまざまであり、骨髄破壊的前処置が5例、骨髄非破壊的前処置は7例で行われた。急性GVHDの合併は4例でグレードII-IIIを認め、慢性GVHDの合併は1例がlimitedであり、4例がextensiveであった。移植後は全例完全キメラを認めている。HSCTを行った患者と行わなかった患者とでは全生存率で明らかな有意差が認められた（図1）。

#### D. 考察

わが国では12例で造血幹細胞移植が行われ、11例が生存していた。非血縁ドナーと血縁ドナーとでは成績の差は認められなかった。骨髄非破壊的前処置と骨髄破壊的前処置とでも成績の差は認められなかった。したがって移植関連合併症をできるだけ避けるためには骨髄非破壊的前処置によるHSCTが望ましいと考えられる。

#### E. 結論

わが国のXLP-1患者におけるHSCTの



成績は良好であり、XLP-1 と診断された場合には、血縁、非血縁を問わず適合ドナーが見つければ、骨髄非破壊的前処置による HSCT が望ましいと考えられる。

#### F. 研究危険情報

特になし

#### G. 研究発表

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. Yang X, Wang J, An YF, Kanegane H, Miyawaki T, Zhao XD. Genetic and proteinic analysis of a Chinese boy with X-linked lymphoproliferative disease and his maternal relatives. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 49:416-20, 2011. Chinese

3. 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. Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol* 2012 Jan 8. [Epub ahead of print]

4. Kanegane H, Yang Xi, 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. 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).

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

## 免疫不全症の QOL 調査、移植研究

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)

### 研究要旨

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、2011 年に報告された MonoMAC 症候群であると考えられた。他の 2 例は類縁疾患である可能性がある。中央診断登録例を検討することで、全国規模で血液所見の異常の側面から先天性免疫不全症候群にアプローチすることが可能となった。

### A. 研究目的

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。小児血液学会は平成 21 年 2 月より再生不良性貧血 (AA)、骨髄異形成症候群 (MDS) 合同の中央診断を開始した。中央診断事務局が名古屋大学小児科におかれ、レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を 2 施設で、骨髄病理標本を 1 施設で行っている。本中央診断に登録された造血障害を有する症例のうち、B(-)NK(-)の phenotype を有する免疫不全が背景にあると考えられる症例を検討する。

### B. 研究方法

AA/MDS 中央診断事業に登録された症例において先天性免疫不全症候群および先天性免疫不全症候群に関連する疾患である可能性がある症例を抽出・検討した。

中央診断およびそれに伴う検査については、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得、患者及び患者保護者の同意を取得した後に行った。

### C. 研究結果

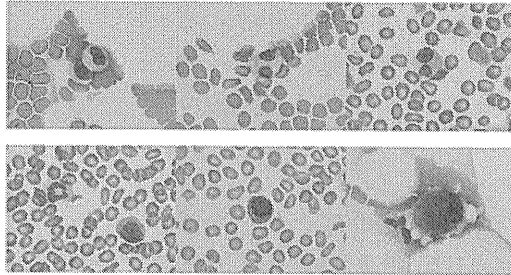
AA/MDS 中央診断事業開始から 2 年 9 ヶ月で 500 例の形態中央診断が行われたが、うち 4 例で B(-)NK(-)の phenotype を有する免疫不全が合併した造血障害症例が登録された。うち 2 例で GATA2 遺伝子変異が同定され、2011 年に相次いで複数のグループから報告された MonoMAC 症候群であると考えられる。GATA2 変異が同定された症例の MDS としての病型は、Refractory cytopenia of childhood (RCC) 1 例、refractory anemia with excess of blast (RAEB)1 例であった。他の 2 例 (病理像は RCC) では GATA2 変異は認められず、類縁疾患である可能性がある。

表 1. 登録された B(-)NK(-)4 症例

	WBC (/ul)	Mono (%)	CD19 (%/Ly)	NK (%/Ly)	GATA2 mutation
CR 62 (9y/F)	2,400	1	1.1	0.83	-
CR147 (4y/F)	1,400	0	0.63	0.99	+
CR341 (8m/M)	3,900	4	0.62	0.48	-
CR513 (4y/M)	4,000	0	0.13	0.04	+

図 1. GATA2 変異症例の骨髓像

Pseudo-Pelger 異常を含む軽度の異形成を 3 系統の造血細胞に認める。



#### D. 考察

中央診断登録例を検討することで、全国規模で血液所見の異常の側面から先天性免疫不全症候群にアプローチすることが可能となった。今後、GATA2 変異以外の新たな B(-)NK(-)の表現型をとる、新たな免疫不全疾患の概念を確立できる可能性があると考えられる。

#### E. 結論

AA/MDS 中央診断事業を通じて、国内における血液異常の側面からの先天性免疫不全症候群へのアプローチが可能となった。

#### F. 研究危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Horikoshi Y, Hama A, Muramatsu H, Yoshida N, Yagasaki H, Kudo K, Horibe K, Kato K, Kojima S. Total body irradiation and melphalan as a conditioning regimen for children with hematological malignancies undergoing transplantation with stem cells from HLA-identical related donors. *Pediatr Transplant* 2011;15:642-649.

2. Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Hama A, Muramatsu H, Doisaki S,

Horibe K, Kato K, Kojima S. Prognostic factors for outcomes of pediatric patients with refractory or relapsed acute leukemia undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17: 516-523.

3. Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A, Mizutani S. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. *Blood* 2011;117: 2887-2890.

4. Shima H, Tokuyama M, Tanizawa A, Tono C, Hamamoto K, Muramatsu H, Watanabe A, Hotta N, Ito M, Kurosawa H, Kato K, Tsurusawa M, Horibe K, Shimada H. Distinct impact of imatinib on growth at prepubertal and pubertal ages of children with chronic myeloid leukemia. *J Pediatr* 2011;159:676-681.

5. Sakaguchi H, Takahashi Y, Watanabe N, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kudo K, Kojima S. Incidence, clinical features, and risk factors of idiopathic pneumonia syndrome following hematopoietic stem cell transplantation in children. *Pediatric blood & cancer* 2011.

6. Nishio N, Takahashi Y, Tanaka M, Xu Y, Yoshida N, Sakaguchi H, Doisaki S, Hama A, Muramatsu H, Shimada A, Kojima S. Aberrant phosphorylation of STAT5 by granulocyte-macrophage colony stimulating factor in infant cytomegalovirus infection mimicking juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia research* 2011; 35:1261-1264.

7. Nishio N, Takahashi Y, Ohashi H,

- Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kojima S. Reduced-intensity conditioning for alternative donor hematopoietic stem cell transplantation in patients with dyskeratosis congenita. *Pediatr Transplant* 2011; 15:161-166.
8. Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Nishio N, Hama A, Shimada A, Ito M, Kojima S. Autoimmune-like hepatitis following unrelated BMT successfully treated with rituximab. *Bone marrow transplantation* 2011. [Epub ahead of print]
9. Muramatsu H, Takahashi Y, Shimoyama Y, Doisaki S, Nishio N, Ito Y, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Ito M, Kojima S. CD20-negative Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease refractory to rituximab in a patient with severe aplastic anemia. *International journal of hematology* 2011;93:779-781.
10. Muramatsu H, Takahashi Y, Sakaguchi H, Shimada A, Nishio N, Hama A, Doisaki S, Yagasaki H, Matsumoto K, Kato K, Kojima S. Excellent outcomes of children with CML treated with imatinib mesylate compared to that in pre-imatinib era. *International journal of hematology* 2011;93:186-191.
11. Kamio T, Ito E, Ohara A, Kosaka Y, Tsuchida M, Yagasaki H, Mugishima H, Yabe H, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Hama A, Kaneko T, Nagasawa M, Kikuta A, Osugi Y, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S. Relapse of aplastic anemia in children after immune-suppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. *Haematologica* 2011;96:814-819.
12. Ismael O, Shimada A, Hama A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Yoshida N, Ito M, Takahashi Y, Akita N, Sunami S, Ohtsuka Y, Asada Y, Fujisaki H, Kojima S. Mutations profile of polycythemia vera and essential thrombocythemia among Japanese children. *Pediatric blood & cancer* 2011. [Epub ahead of print]
13. Hama A, Muramatsu H, Makishima H, Sugimoto Y, Szpurka H, Jasek M, O'Keefe C, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Shimada A, Watanabe N, Kato K, Kiyoi H, Naoe T, Kojima S, Maciejewski JP. Molecular lesions in childhood and adult acute megakaryoblastic leukaemia. *British journal of haematology* 2011. [Epub ahead of print]
14. 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* 2011;138:172-177.
2. 学会発表  
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし