

Bloom 症候群の最近の海外の報告

研究分担者 深尾 敏幸 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科／大学院医学系研究科小
児病態学 教授

研究要旨

Bloom 症候群は非常にまれなゲノム不安定性とそれによる早期発癌を伴う症候群である。2009年から2011年にかけて国際誌に報告された Bloom 症候群の症例4例について検討を加えた。報告はチュニジア、インドからであったが、確定診断としての遺伝子変異の報告はなく、類縁疾患鑑別の点からも遺伝子診断が重要であると考えられた。

A. 研究目的

Bloom 症候群は非常にまれなゲノム不安定性とそれによる早期発癌を伴う症候群である。本研究班では、本邦における Bloom 症候群の実態調査を行っているが、これまでに 9 家系 10 名の症例が見つかったのみである。海外においても本症はやはり稀な疾患であり、この2年間に症例報告が3家系4症例、がみられている。そこで、これらの症例についてレビューを行った。

B. 研究方法

PubMedにおいて Bloom syndrome で2011, 2010, 2009年について検索を行い、3つの症例報告が認められた。

C. 研究結果

症例1（チュニジアではじめて Bloom 症候群として登録された症例：Clin. Res. Hepatol Gastroenterol. 2011 Oct;35(10):682-4)

症例は19歳女性で、いとこ婚の第1子として出生。弟が5歳で急性白血病で死亡している。4歳時に反復性呼吸器感染、顔貌異常、成長障害、皮疹と Bloom 症候群に特徴的な染色体異常から診断されていた。

19歳時、30kg、132cmと成長障害あり、小頭症、小顎症、爪の異常がみられ、顔面に毛細血管拡張を伴う紅班がみられた。左下腹部に触知可能な腫

瘤があり、足に左右非対称に浮腫が見られた。大腸ファイバーにて、直腸S状結腸移行部に腫瘍があり、バイオプシーは adenocarcinoma であった。CTにて深在性の静脈血栓が認められた。診断後15日で肺塞栓にて死亡した。

症例2（インドの症例 Lung India. 2009 Jul;26(3):92-4.)

24歳の男性で、生後5か月からの咳と息切れを呈した。両親はいとこ婚。知的障害を伴わない成長障害と発達の遅れを指摘されてきた。1ヶ月前から糖尿病と診断を受けてインスリン治療中であった。24歳時身長117cm、両頬毛細血管拡張、多指症があり、2次性徴はみられたが、まつげはなく、ばち状指、チアノーゼ、多呼吸がみられた。血液ガスは呼吸性アシドーシスを示唆し、胸部CTでは両側性に嚢泡状の気管支拡張と両側上葉の前部に巣状のすりガラス状陰影をもつ肺気腫を示した (bronchiolitis obliterans)。頭部CTでは両側性の淡蒼球、右小脳半球の石灰化、両側脳室周囲白質に低吸収域が見られた。一時はICU呼吸ケアなどで退院したが、1ヶ月後に強い呼吸困難をきたし、死亡した。本症例ではSCEの検査を2回試みたがうまく細胞が増えず検査ができていない。

症例3（インドの別の兄弟例の兄：Pediatr Dermatol.

2010 Mar-Apr;27(2):174-7)

8歳男児。両親は血族婚なし。2ヶ月までは無症状。その後頬に日光で悪化する紅班出現。乳児期から反復性上気道感染があった。出生時1.6kgと小さく、発達も遅れた。3歳で話し始めた。8歳時100cmと背が低く、指が太く短く、Dolichocephalyで小頭症。両側睪丸は触れなかった。蝶形の紅班、色素沈着、毛細血管拡張が顔に見られた。SCE頻度の上昇が見られた。歯と爪は正常。

症例4（インドの兄弟例の弟：Pediatr Dermatol. 2010 Mar-Apr;27(2):174-7)

6歳男児で症例3の弟。7ヶ月から兄同様に顔の皮疹。正期産で1.5kgで出生。発達も遅くしゃべるのは3.5歳。6歳時で、75cmと低身長、Dolichocephalyで小頭症。外陰部の発達は不良であるが睪丸は両側触知。顔も兄と同様の所見、歯と爪は正常。

D. 考察と結論

症例1では発癌が問題となっており、German教授による168例の症例データから、白血病や悪性リンパ腫は20歳までにおおく、その後癌腫がよりコモンとなる。130人に悪性腫瘍がみられ、平均24.8歳で悪性腫瘍が診断されている。12%の患者に平均診断次期が35.4歳で大腸がんが見つかった。この症例1は19歳で進行した大腸のadenocarcinomaを合併していた。4歳から診断されていただけに早期診断出来ていればと思われる症例であった。

症例2はSCEの増加、遺伝子診断などの確定診断がなされていないprobable Bloom syndromeであり、かなり臨床的特徴は一致するが確定的ではない。このような場合は遺伝子診断がなされるべきと考えられた。

症例3、4の兄弟例はまだ年齢が8歳と6歳であり、兄でSCEの増加が示されている。今後悪性リンパ腫、

白血病などの悪性腫瘍の合併に注意が必要である。

本邦においては研究代表者らによって遺伝子解析がなされているが、2009~2011に英文誌に報告された例においても遺伝子変異の解析はなされておらず、類縁疾患鑑別の点からも遺伝子解析の必要性を強調したい。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Yamada T, Kondo N. Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency. Mol Med Report 4:607-609, 2011

2) Fukao T, Sass JO, Kursula P, Thimm E, Wendel U, Ficicioglu C, Monastiri K, Guffon N, Varic I, Zabol M-T, Kondo N. Clinical and molecular characterization of five patients with Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) deficiency Biochimica Biophysica Acta Molecular Basis of Disease 1812:619-24, 2011

3) Macdonald MJ, Longacre MJ, Stoker SW, Kendrick MA, Thonpho A, Brown LJ, Hasan NM, Jitrapakdee S, Fukao T, Hanson MS, Fernandez LA, Odorico J. Differences between human and rodent pancreatic islets: low pyruvate carboxylase, ATP citrate lyase and pyruvate carboxylation; high glucose-stimulated acetoacetate in human pancreatic islets. J Biol Chem. 286:18383-18396, 2011

4) Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Hasegawa Y, Toyoshima M, Haapalainen AM, Kuwada N, Imamura M, Yuasa I, Wierenga RK, Yamaguchi S, Kondo N. Three Japanese patients with beta-ketothiolase deficiency who share a mutation, c.431A>C (H144P) in ACAT1: subtle abnormality in urinary organic acid analysis and blood acylcarnitine analysis using tandem mass spectrometry. JIMD Reports in press

F 知的財産権の出願・登録状況

特になし

小柄な体型を示す新生児の検討

研究分担者 内田 靖 国立病院機構長良医療センター小児科
成育診療部長

研究要旨

今年度は診断の端緒としての低身長に着目し、SGA (small for gestational age) 性低身長症の頻度とフォローアップの現況について検討した。5年間で基準を満たすSGA児は、染色体異常や多発奇形等の基礎疾患をもつ患児を除外すると、114例(12.7%)であり、正期産児(在胎37週以降)の割合が多かった。そのうち18名がフォローから脱落していた。生下時よりの低身長を呈する児の中にBloom症候群が含まれている可能性があり、後年日光過敏性紅斑、免疫不全、癌腫の発症を呈してくる可能性がある。早期診断のためには、生後早めに家族への情報提供を行い、Bloom症候群に対する認識を深める必要があると考えた。

A. 研究目的

本研究の目的は、遺伝子修復異常症(Bloom症候群、Rothmund-Thomson症候群、RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群)に関して、今まで明らかになっていなかった本邦の患者数、QOL等を明らかにし、診断指針を作製し普及させることで、患者のQOL向上、生命予後の改善を図ることである。

B. 研究方法

Bloom症候群は、生下時からの小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全を特徴とする常染色体劣性の遺伝病である。今年度は診断の端緒としての低身長に着目し、SGA (small for gestational age) 性低身長症の頻度とフォローアップの現況について検討した。2003年1月～2007年12月に国立病院機構長良医療センターNICUに入院し、出生時にSGA性低身長の基準を満たす児を対象とし、当院のデータベースおよび診療録を用いて、後方視的に検討した。(倫理面への配慮)

臨床情報を収集する場合も連結可能匿名化する。十分なインフォームドコンセントを行ったのち、書面にて署

名を得て行う。研究成果の発表においても個人が同定されない配慮を行う。

C. 研究結果

5年間で基準を満たすSGA児は、染色体異常や多発奇形等の基礎疾患をもつ患児を除外すると、114例(12.7%)であり、正期産児(在胎37週以降)の割合が多かった。このうち2歳までにCatch upした児は63名(55.2%)、Catch upしない児は29名(25.4%)であった。そのうち18名がフォローから脱落していた。

D. 考察

SGA性低身長を満たす児は、正期産が多く、経過が順調であれば、早期にフォローを終了していることがあり、多数の患児が脱落している現状であった。この中に後年日光過敏性紅斑、免疫不全、癌腫の発症を呈してくる患者が存在する可能性があり、早期に診断して、定期的にフォローすることが重要である。

E. 結論

生下時よりの低身長を呈する児の中にBloom症候群が含まれている可能性がある。早期診断のため

には、生後早めに家族への情報提供を行い、Bloom 症候群に対する認識を深める必要があると考えた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Uchida Y, Morita H, Adachi S, Asano T, Taga T, Kondo N: Bacterial meningitis of neonate due to *Lactococcus lactis*. *Pediatr Int* 53; 119-120 (2011)

2. 学会発表

金子英雄、深尾敏幸、谷内江昭宏、清河信敬、滝田順子、内田靖、近藤直実：Bloom 症候群の実態調査と診断指針の策定の試み 日本免疫不全症研究会（第 4 回） 2011 年 1 月 22 日 福岡

内田 靖、田渕久美子、安達真也、館林宏治：*Chloramphenicol* が著効したインフルエンザ菌性髄膜炎の 2 乳児例 岐阜免疫アレルギー病態・予防研究会 2011 2011 年 2 月 3 日 岐阜

下川祐子、館林宏治、田渕久美子、青木雄介、安達真也、久保達也、内田 靖：RS ウイルス感染による重症間質性肺炎を合併した Down 症候群の 1 例 日本小児科学会東海地方会（第 251 回） 2011 年 2 月 6 日 名古屋

石原 敬子、内田 靖：フィッティングテスターを用いた N95 マスクのフィット性および使用感に関する検討 日本環境感染学会総会（第 26 回） 2011 年 2 月 19 日 横浜

内田 靖、田渕久美子、下川祐子、青木雄介、安達真也、久保達也、館林宏治：長良医療センターにおける小児結核診療 岐阜小児感染症懇話会（第 14 回） 2011 年 3 月 3 日 岐阜

青木雄介、田渕久美子、下川祐子、安達真也、久保達也、館林宏治、内田 靖：過去 5 年間に当科にて入院加療した乳児アトピー性皮膚炎に関する検討 岐阜県小児科懇話会（第 151 回） 2011 年 3 月 10 日 岐阜

館林宏治、宮崎久美子、下川祐子、青木雄介、安達真也、久保達也、内田 靖：当院 NICU に入院した重症胎児発育不全の検討 岐阜県周産期懇話会（第 45 回） 2011 年 4 月 9 日 岐阜

青木雄介、宮崎久美子、下川祐子、安達真也、久保達也、館林宏治、内田 靖：最近 6 年間に入院加療した乳児アトピー性皮膚炎症例に関する検討 日本小児科学会東海地方会（第 252 回） 2011 年 5 月 22 日 名古屋

金子英雄、内田 靖、館林宏治、青木雄介、下川祐子、宮崎久美子、森田秀行、矢野 充、渡邊宏雄：HB エスケープミュータントの一例 岐阜県小児科懇話会（第 152 回） 2011 年 6 月 9 日 岐阜

西原理香、高橋雄一郎、反中志緒理、木越香織、岩砂智丈、岩垣重紀、館林宏治、内田 靖、川鱒市郎：生後 *Megacystis microcolon intestinal hypoperistalsis syndrome* (MMIHS) と診断された 2 症例の胎児経過 日本周産期・新生児医学会（第 47 回） 2011 年 7 月 11 日 札幌

館林宏治、宮崎久美子、下川祐子、内田 靖：当院 NICU に入院した重症胎児発育不全の検討 1 日本周産期・新生児医学会（第 47 回） 2011 年 7 月 12 日 札幌

館林宏治、宮崎久美子、下川祐子、内田 靖、反中志緒理、木越香織、岩砂智丈、西原理香、岩垣重紀、高橋雄一郎、川鱒市郎：当院 NICU に入院した重症胎児発育不全の検討 2 日本周産期・新生児医学会（第 47 回） 2011 年 7 月 12 日 札幌

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

盆野 元紀、大森 雄介、山本 初実、酒見 好弘、山下 博徳、太田 明、河田 興、内田 靖、佐藤 和夫、高橋 伸、古賀 寛史、野村由美子：国立病院機構 NICU における共通データベースの構築と経年的疾病発症に関する研究：周産期・新生児データの解析 三重県胎児新生児研究会（第 19 回） 2011 年 7 月 21 日 津

内田 靖、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、安達真也、久保達也、舘林宏治、金子英雄：サーベイランスからみた新生児における MRSA 初感染時期の検討 岐阜免疫・感染・川崎病研究会（第 4 回） 2011 年 7 月 21 日 岐阜

久保達也、宮崎久美子、下川祐子、青木雄介、舘林宏治、内田 靖、鴻村 寿、安田邦彦：胎便関連性イレウスに対するガストログラフィン注腸療法と pitfall 中部日本小児科学会（第 47 回） 2011 年 8 月 21 日 名古屋

舘林宏治、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、久保達也、内田 靖、金子英雄：遺伝子組換えエリスロポエチンを投与した重症遺伝性球状赤血球症の 1 例 岐阜県小児科懇話会（第 153 回） 2011 年 9 月 8 日 岐阜

松隈英治、小野学、松本英樹、丸田香奈子、松波邦洋、三浦良介、松尾直樹、今村 淳、下川祐子、森田秀行、舘林宏治、内田 靖：著明な胸・腹水を伴い、3 週間の透析を要したネフローゼ症候群の一例 中部日本小児腎臓病研究会（第 19 回） 2011 年 9 月 11 日 羽島

盆野元紀、大森雄介、山本初実、酒見好弘、山下博徳、太田 明、河田 興、内田 靖、佐藤和夫、高橋 伸、古河寛史、野村由美子：NICU 共通データベースの構築と経年的疾病発生に関する研究：周産期・新生児データの集積とその解析 国立病院総合医学会（第 65 回） 2011 年 10 月 8 日 岡山

内田 靖、盆野元紀、山本初実、大森雄介、山下博徳、

酒見好弘、太田 明、河田 興、佐藤和夫、高橋 伸、古河寛史：NICU 共通データベースを活用した先天異常児に関する前向きコホート研究 国立病院総合医学会（第 65 回） 2011 年 10 月 8 日 岡山

内田 靖、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、安達真也、久保達也、舘林宏治、金子英雄：サーベイランスからみた新生児における MRSA 初感染時期の検討 東海小児感染症研究会（第 15 回） 2011 年 10 月 15 日 岐阜

舘林宏治、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、久保達也、内田 靖、金子英雄、鴻村 寿、安田邦彦、水津 博：長良医療センター開設後 6 年間の NICU 入院患者について 岐阜県周産期懇話会（第 46 回） 2011 年 10 月 22 日 多治見

松隈英治、小野 学、松本英樹、丸田香奈子、松波邦洋、三浦良介、松尾直樹、今村 淳、岩田 仁、下川祐子、森田秀行、舘林宏治、内田 靖：著明な胸水を伴い、一時的な透析を要したステロイド抵抗性ネフローゼ症候群の 1 例 日本小児科学会東海地方会（第 253 回） 2011 年 10 月 23 日 岐阜

舘林宏治、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、久保達也、内田 靖、金子英雄：遺伝子組換えエリスロポエチンを投与した重症遺伝性球状赤血球症の 1 例 日本小児科学会東海地方会（第 253 回） 2011 年 10 月 23 日 岐阜

内田 靖：長良医療センターにおける小児結核診療に関する検討 日本小児感染症学会（第 43 回） 2011 年 10 月 29 日 岡山

内田 靖、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、安達真也、久保達也、舘林宏治、金子英雄：両側上肢の形成異常を合併した 21 番環状染色体の 1 例 日本人類遺伝学会（第 56 回） 2011 年 11 月 9 日 千葉

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

舘林宏治、内田 靖、盆野元紀、山本初実、大森雄介、
山下博徳、酒見好弘、太田 明、河田 興、佐藤和夫、
高橋 伸、古河寛史：国立病院機構 NICU 共通データ
ベースを活用した先天異常児に関する前向きコホー
ト研究 日本未熟児新生児学会（第 56 回） 2011 年
11 月 14 日 東京

下川祐子、宮崎久美子、青木雄介、舘林宏治、久保達
也、内田 靖：長良医療センターにおける
small-for-gestational age 児のフォローアップに関
する検討 日本未熟児新生児学会（第 56 回） 2011
年 11 月 14 日 東京

久保達也、下川祐子、宮崎久美子、舘林宏治、内田 靖、
川齋市郎、高橋雄一郎、青木雄介：退院時画像所見か
ら検証する当院の一絨毛膜双胎早産児の神経学的予
後 日本未熟児新生児学会（第 56 回） 2011 年 11
月 14 日 東京

盆野元紀、大森雄介、山本初実、酒見好弘、山下博徳、
太田 明、河田 興、舘林宏治、内田 靖、佐藤和夫、
高橋 伸、古賀寛史、野村由美子：国立病院機構NICU
における共通データベースの構築と経年的疾病発症
に関する研究：周産期・新生児データの解析 日本未
熟児新生児学会（第56回） 2011年11月14日 東京

内田 靖、宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄
介、久保達也、舘林宏治、金子英雄：サーベイランス
からみたNICUにおけるMRSA初感染時期の検討 東海
新生児研究会（第 20 回） 2011 年 11 月 26 日 名古
屋

宮崎久美子、下川祐子、森田秀行、青木雄介、舘林宏
治、久保達也、内田 靖、金子英雄、加藤達雄、大西
涼子、鮎稔隆：肺炎を繰り返した気管支異物の 1 例
岐阜県小児科懇話会（第 154 回） 2011 年 12 月 2 日
岐阜

金子英雄、舘林宏治、宮崎久美子、下川祐子、森田秀
行、青木雄介、久保達也、内田 靖：遺伝子組み換え

エリスロポイエチン投与を行った重症遺伝性球状赤
血球症の 1 例 岐阜臨床輸血研究会（第 19 回） 2011
年 12 月 2 日 岐阜

（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

H. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

別紙4

雑誌					
発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
金子英雄	毛細血管拡張性運動失調(症)	井村裕夫総編集。 症候群ハンドブック		pp34-35	2011
Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Yamada T, Kondo N	Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency.	Mol Med Report	4	607-609	2011
Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kubota K, Yamamoto T, Matsui E, Teramoto T, Fukao T, Kasahara K, Kondo N	Structural property of soybean protein P34 and specific IgE response to recombinant P34 in patients with soybean allergy.	Int J Mol Med	29	153-8	2011
Ohnishi H, Miyata R, Suzuki T, Nose T, Kubota K, Kato Z, Kaneko H, Kondo N	A rapid screening method to detect autosomal-dominant ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome.	J Allergy Clin Immunol	129	578-80	2012
Ohnishi H, Teramoto T, Iwata H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Nishikomori R, Kaneko H, Seishima M, Kondo N	Characterization of NLRP3 variants in Japanese cryopyrin-associated periodic syndrome patients.	J Clin Immunol			in press
Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kubota K, Ozeki M, Orii K, Kaneko H, Kondo N	Successful treatment of pediatric immune thrombocytopenic purpura associated with ulcerative colitis.	Pediatr Int	53	771-773	2011
Funato M, Kaneko H, Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Orii K, Kato Z, Fukao T, Kondo N	Pediatric acute lymphoblastic leukemia mimicking Henoch-Schönlein purpura.	Pediatr Int	53	766-768	2011

別紙4

Funato M, Kaneko H, Ohkusu K, Sasai H, Kubota K, Ohnishi H, Kato Z, Fukao T, Kondo N	Refractory chronic pleurisy caused by <i>Helicobacter equorum</i> -like bacterium in a patient with X-linked agammaglobulinemia.	J Clin Microbiol	49	3432-3435	2011
An Y, Ohnishi H, Matsui E, Funato M, Kato Z, Teramoto T, Kaneko H, Kimura T, Kubota K, Kasahara K, Kondo N	Genetic variations in MyD88 adaptor-like are associated with atopic dermatitis.	Int J Mol Med	27	795-801	2011
Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kondo N	Antigen-specific immune response to endotoxin-free recombinant P34.	Allergy.	66	985-986	2011
滝田順子	X.血液・悪性腫瘍 13.ユーイング肉腫／PNET(primitive neuroectodermal tumor)における大量化学療法の有用性は？	EBM小児疾患の治療2011-2012 五十嵐隆編集 中外医学社 東京		576-580	2011
滝田順子	正常数値など	小児科学 第10版 文光堂 東京		1096-1112	2011
Okubo J, Takita J, Chen Y, Oki K, Nishimura R, Kato M, Sanada M, Hiwatari M, Hayashi Y, Igarashi T, Ogawa S	Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma.	Oncogene			2012 Jan 16. [Epub ahead of print]
Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y	CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia.	Br J Haematol.	156	672-674	2012

Miura K, Sekine T, Takamizawa M, Terashima H, Furuya A, Koh K, Takita J, Ida K, Igarashi T	Early occurrence of nephrotic syndrome associated with cord blood stem cell transplantation.	Clin Exp Nephrol.	4		2011Oct 12. [Epub ahead of print]
Takita J, Chen Y, Okubo J, Sanada M, Adachi M, Ohki K, Nishimura R, Hanada R, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S	Aberrations of NEGR1 on 1p31 and MYEOV on 11q13 in neuroblastoma.	Cancer Science.	102	1645-1650	2011
Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y	CBL mutation in childhood therapy-related leukemia.	Leukemia.	25	1356-1358	2011
Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J, Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S	IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies.	Leukemia.	25	382-384	2011
Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y	Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma.	Cancer Sci.	102	302-308	2011
Yoshida K, Sanada M, Kato M, Kawahata R, Matsubara A, Takita J, Shih LY, Mori H, Koeffler HP, Ogawa S	A nonsense mutation of IDH1 in myelodysplastic syndromes and related disorders.	Leukemia.	25	184-186	2011

別紙4

Takahashi K, Oka A, Mizuguchi M, Saitoh M, Takita J, Sato A, Mimaki M, Kato M, Ogawa S, Igarashi T	Interstitial deletion of 13q14.13-q32.3 presenting with Arima syndrome and bilateral retinoblastoma.	Brain Dev.	33	353-356	2011
加藤元博, 真田昌, 加藤格, 佐藤康晴, 滝田順子, 竹内賢吾, 丹羽明, 陳玉彦, 中崎久美, 野本順子, 朝倉義崇, 赤塚美紀, 林泰秀, 森啓, 五十嵐隆, 黒川峰夫, 千葉滋, 森茂郎, 石川雄一, 岡本康司, 飛内賢正, 中釜齊, 中畑龍俊, 吉野正, 小林幸夫, 小川誠司	B細胞性悪性リンパ腫におけるA20の遺伝子変異による不活性化(解説)	臨床血液	52	313-319	2011
滝田順子	【神経芽腫】神経芽腫の分子病態とALK遺伝子の異常(解説/特集)	Pharma Medica.	29	45-49	2011
滝田順子	リボソームの異常による造血器疾患(解説).	血液内科	62	256-261	2011
Uchida Y, Morita H, Adachi S, Asano T, Taga T, Kondo N	Bacterial meningitis of neonate due to Lactococcus lactis.	Pediatr Int	53	119-120	2011
Wada T, Nishimura K, Kuroda M, Asai E, Vu QV, Toma T, et al.	A case of acute encephalopathy with hemophagocytic lymphohistiocytosis and clonal T-cell expansion. neuroblastoma.	Brain Dev			in press
Yang X, Wada T, Imadome KI, Nishida N, Mukai T, Fujiwara M, et al.	Characaterization 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	66		in press

Fukao T, Sass JO, Kursula P, Thimm E, Wendel U, Ficioglu C, Monastiri K, Guffon N, Varic I, Zobot M-T, Kondo N.	Clinical and molecular characterization of five patients with Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) deficiency	Biochimica Biophysica Acta Molecular Basis of Disease	1812	619-24	2011
Macdonald MJ, Longacre MJ, Stoker SW, Kendrick MA, Thonpho A, Brown LJ, Hasan NM, Jitrapakdee S, Fukao T, Hanson MS, Fernandez LA, Odorico J.	Differences between human and rodent pancreatic islets: low pyruvate carboxylase, ATP citrate lyase and pyruvate carboxylation; high glucose-stimulated acetoacetate in human pancreatic islets.	J Biol Chem	286	18383-18396	2011
Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Hasegawa Y, Toyoshima M, Haapalainen AM, Kuwada N, Imamura M, Yuasa I, Wierenga RK, Yamaguchi S, Kondo N.	Three Japanese patients with beta-ketothiolase deficiency who share a mutation, c.431A>C (H144P) in ACAT1: subtle abnormality in urinary organic acid analysis and blood acylcarnitine analysis using tandem mass spectrometry.	JIMD Reports			in press
Ogasawara N, Katagiri YU, Kiyokawa N, Kaneko T, Sato B, Nakajima H, Miyagawa Y, Kushi Y, Ishida H, Kiso M, Okita H, Sato T, Fujimoto J.	Accelerated biosynthesis of neolacto-series glycosphingolipids in differentiated mouse embryonal carcinoma F9 cells detected by using dodecyl N-acetylglucosaminide as a saccharide primer.	J Biochem.	149	321-30	2012

別紙4

Ohta H, Iwamoto S, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Deguchi T, Takase K, Fujimoto J, Horibe K, Komada Y.	Flow cytometric analysis of de novo acute myeloid leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group.	Int J Hematol	93	135-7	2011
Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Kikuchi A, Koh K, Kiyokawa N, Fukushima T, Ishida Y, Saito T, Hanada R, Tsuchida M	The Tokyo Children's Cancer Study Group.	Pediatr Blood Cancer			in press
Katagiri YU, Sato B, Yamatoya K, Taki T, Goto-Inoue N, Setou M, Okita H, Fujimoto J, Ito C, Toshimori K, Kiyokawa N.	GalNAc β 1,3-linked paragloboside carries the epitope of a sperm maturation-related glycoprotein that is recognized by the monoclonal antibody MC121.	Biochem Biophys Res Commun	406	326-31	in press
Sato B, Katagiri YU, Miyado K, Okino N, Ito M, Akutsu H, Okita H, Umezawa A, Fujimoto J, Toshimori K, Kiyokawa N.	Lipid rafts enriched in monosialylGb5Cer carrying the stage-specific embryonic antigen-4 epitope are involved in development of mouse preimplantation embryos at cleavage stage.	BMC Dev Biol	11	22	2011
Iwamoto S, Deguchi T, Ohta H, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Yamada T, Takase K, Fujimoto J, Hanada R, Hori H, Horibe K, Komada Y.	Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group.	Int J Hematol	94	185-92	2011

別紙4

<p>Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi A, Takahashi H, Koh K, Manabe A, Kumagai M, Ikuta K, Hayashi Y, Tsuchida M, SugitaK, Ohara A.</p>	<p>Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15</p>	<p>Br J Hematol</p>			<p>in press</p>
---	---	---------------------	--	--	-----------------

IV. 研究成果の刊行物・別冊

Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency

HIDEO KANEKO^{1,2}, TOSHIYUKI FUKAO¹, KIMIKO KASAHARA¹, TAKETO YAMADA³ and NAOMI KONDO¹

¹Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Gifu University, Gifu 501-1194; ²Department of Clinical Research, Nagara Medical Center, Gifu 502-8558; ³Department of Pathology, School of Medicine, Keio University, Tokyo 160-8582, Japan

Received December 20, 2010; Accepted March 28, 2011

DOI: 10.3892/mmr.2011.484

Abstract. Bloom syndrome (BS) is a rare autosomal genetic disorder characterized by lupus-like erythematous telangiectasias of the face, sun sensitivity, infertility, stunted growth, upper respiratory infection, and gastrointestinal infections commonly associated with decreased immunoglobulin levels. The syndrome is associated with immunodeficiency of a generalized type, ranging from mild and essentially asymptomatic to severe. Chromosomal abnormalities are hallmarks of the disorder, and high frequencies of sister chromatid exchanges and quadriradial configurations in lymphocytes and fibroblasts are diagnostic features. BS is caused by mutations in BLM, a member of the RecQ helicase family. We determined whether BLM deficiency has any effects on cell growth and death in BLM-deficient cells and mice. BLM-deficient EB-virus-transformed cell lines from BS patients and embryonic fibroblasts from BLM^{-/-} mice showed slower growth than wild-type cells. BLM-deficient cells showed abnormal p53 protein expression after irradiation. In BLM^{-/-} mice, small body size, reduced number of fetal liver cells and increased cell death were observed. BLM deficiency causes the up-regulation of p53, double-strand break and apoptosis, which are likely observed in irradiated control cells. Slow cell growth and increased cell death may be one of the causes of the small body size associated with BS patients.

Introduction

Bloom syndrome (BS) is a rare genetic disorder caused by mutations in BLM, a member of the RecQ helicase family (1). There are five human RecQ-like proteins (RECQL1, BLM, WRN, RECQL4 and RECQ5), each having 3' to 5' DNA helicase activity, but little sequence similarity outside the helicase motifs (2,3). Three of these helicases (BLM, WRN and Rothmund-Thomson) show genomic instability and cancer susceptibility; however, each also has distinctive features

(4,5). The unique features of BS are severe pre- and post-natal growth retardation and a wide spectrum of cancer types that develop at a young age. Other BS phenotypes include facial sun sensitivity, immunodeficiency and male sterility/female subfertility (6,7). Compared with Werner syndrome, small body size is one of the characteristic features associated with BS patients.

Here, we determined whether BLM deficiency has any effects on the cell growth and death of BLM-deficient cells and mice.

Materials and methods

BS patient. AsOk, who was identified in the BS registry as number 97, weighed 2,250 g at birth. Café-au-lait spots and mandibular hypoplasia were prominent. A 3-bp deletion was detected in the BLM sequence of AsOk DNA (8). This deletion caused the generation of a stop codon at amino acid 186.

Cell culture. EB-virus-transformed cell lines from BS patients and control subjects were developed as previously reported (9). In brief, PBMCs were isolated from the heparinized blood of patients by gradient centrifugation in Ficoll-Paque (Pharmacia AB, Uppsala, Sweden), and suspended at a density of 10⁶ ml in culture medium consisting of RPMI 1640 supplemented with 10% heat-inactivated fetal calf serum, l-glutamine (2 mmol/l), penicillin (100 U/ml) and streptomycin (100 µg/ml). The PBMCs (10⁶ ml) were then cultured in the presence of 10 µg/ml phytohemagglutinin (PHA) for 3 days.

Detection of p53 protein. PBMCs cultured with PHA for 3 days were irradiated (6 Gy). After 1 h, the cells were collected by centrifugation and protein was extracted. Using anti-human p53 antibody (Santacruz, USA), immunoblotting was performed.

BLM-deficient embryonic fibroblasts. Heterozygous BLM-deficient (BLM^{+/-}) mice were kindly provided by P. Leder. BLM^{-/-} mice were obtained by mating BLM^{+/-} mice (10). Embryonic fibroblasts from BLM^{-/-} mice were obtained from 12.5-day embryos. None of the BLM^{-/-} embryos survived more than 13 days.

Cell proliferation assay. Cell proliferation and cell viability were determined by the trypan blue or MTT assays. The MTT assay was performed following the manufacturer's protocol.

Correspondence to: Professor Hideo Kaneko, Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine, Gifu University, 1-1 Yanagido, Gifu 501-1194, Japan
E-mail: hideo@gifu-u.ac.jp

Key words: Bloom syndrome, small body size, BLM deficiency, cell death

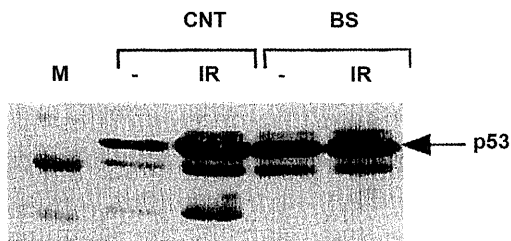


Figure 1. p53 protein expression in PBMCs from a control subject and a BS patient. PBMCs cultured with PHA for 3 days were irradiated (6 Gy). After 1 h, the cells were collected and p53 protein expression was detected.

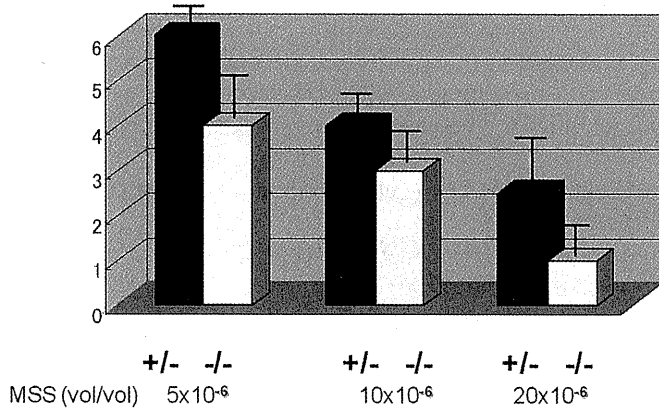


Figure 2. Cell proliferation and cell viability were determined using trypan blue. Embryonic fibroblasts were established from BLM^{+/-} and BLM^{-/-} mice at 12.5 days post-coitus. Embryonic fibroblasts from BLM^{-/-} mice showed a slow growth rate and a high sensitivity to MMS compared to those from BLM^{+/-} mice.

Embryonic fibroblasts were cultured with methyl methanesulfonate (MMS) (Sigma, Japan) for 24 h (11), then the viable cell number was determined on trypan blue.

Detection of single-strand DNA. Paraffin and cryostat sections were prepared from the brain of BLM^{+/-} or BLM^{-/-} mice at 12.5 days post-coitus. Polyclonal rabbit anti-ssDNA antibody (IgG, 100 µg/ml, Dako Japan, Kyoto, Japan) at a dilution of

1:300 was used to detect the formation of single-stranded DNA (ssDNA) for 1 h at room temperature. Immunoreactivity was detected with peroxidase-labeled goat anti-rabbit immunoglobulins.

Results

Abnormal regulation of p53 protein expression. After the irradiation of PHA-stimulated PBMCs, p53 protein expression was induced in control cells (Fig. 1). In the PBMCs of the BS patient, high p53 protein expression was detected even without irradiation. Irradiation slightly induced p53 protein in BS cells. In the BS EB cell line, p53 phosphorylation by ATM was up-regulated compared with that in the control EB cell line (data not shown). These results suggested that BLM-deficient cells have abnormal regulation of p53 protein expression and an elevated frequency of apoptosis. Next, apoptosis was investigated *in vivo* and *in vitro* using BLM-deficient cells.

Slow growth in BLM-deficient cells. The growth rate of EB cells from BS patients was slower than that of control cells. After irradiation, the growth rate of BS cells was slower than that of control cells. MMS action caused double-stranded DNA breaks. The sensitivity of BLM^{-/-} cells to MMS was higher than that of wild type cells. Embryonic fibroblasts originating from BLM^{-/-} mice also showed a slowed growth rate (Fig. 2).

Augmented cell death in embryonic brain of BLM^{-/-} mice. Anti-single-stranded DNA was detected in the brain of BLM^{-/-} mice, with the number being higher than that detected in the brain of BLM^{+/-} mice (Fig. 3). This result suggested the occurrence of augmented cell death in BLM^{-/-} mice.

Discussion

In this study, we showed the abnormal regulation of p53 protein expression and augmented cell death in BLM-deficient cells both *in vitro* and *in vivo*. Stalled replication forks can result in double-strand breaks, thereby triggering the activation of ATM (12). Consistent with a previously reported study, the deficiency of BLM was radiomimetic (13).

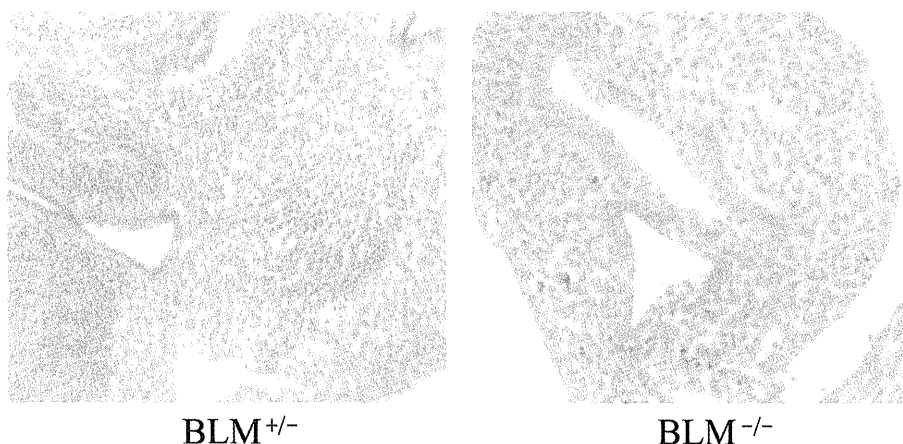


Figure 3. Detection of single-stranded DNA. Immunohistochemical staining of BLM^{+/-} and BLM^{-/-} embryos at 12.5 days post-coitus was performed.

Originally, MMS was considered to directly cause double-stranded DNA breaks, since homologous-recombination-deficient cells are particularly vulnerable to the effects of MMS. However, it is now considered that MMS stalls replication forks, and cells that are homologous-recombination-deficient have difficulty repairing the damaged replication forks.

Studies in yeast and human cells suggest a pivotal role of RECQ-like helicases in maintaining genomic integrity during the S phase (14). BS patients show small body size from birth. This small body size persists throughout their lifetime. At 12.5 days post-coitus, BLM-deficient mice have a smaller body size than wild-type mice (10).

BLM deficiency renders cells highly susceptible to apoptosis, which is a possible explanation for the pre- and post-natal growth retardation observed in BS patients. In the absence of BLM, many cells fail to repair damage rapidly enough, whereupon p53 signals those cells to die. Individuals with BS may continually lose cells, owing to excessive apoptosis, particularly during pre- and post-natal development, when cell proliferation is excessive (15). Excessive apoptosis would leave many tissues with chronic cellular insufficiency, and hence a small size, thereby explaining the pre- and post-natal growth retardation.

p53 is crucial for the apoptosis of BS cells. This apoptosis is not accompanied by an increase in BAX or p21 protein expression. Thus, p53 may induce apoptosis independent of its transactivation activity, consistent with the finding that p53 is transcriptionally inactive during the S phase. p53 may mediate the death of damaged BS cells by directly inducing mitochondria-mediated apoptosis, or by means of its transactivation activity.

In conclusion, BLM deficiency causes the dysregulation of p53 and augmented apoptosis, similar to that observed in irradiated wild-type cells. This slow cell growth and increased cell death may cause the small body size associated with BS patients.

Acknowledgements

This study was supported in part by Health and Labor Science Research Grants for Research on Intractable Diseases from The Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan.

References

1. Ellis NA, Groden J, Ye TZ, *et al*: The Bloom's syndrome gene product is homologous to RecQ helicases. *Cell* 83: 655-666, 1995.
2. Ellis NA, Sander M, Harris CC and Bohr VA: Bloom's syndrome workshop focuses on the functional specificities of RecQ helicases. *Mech Ageing Dev* 129: 681-91, 2008.
3. Rossi ML, Ghosh AK and Bohr VA: Roles of Werner syndrome protein in protection of genome integrity. *DNA Repair*: Jan 13, 2010 (E-pub ahead of print).
4. German J: Bloom syndrome: a Mendelian prototype of somatic mutational disease. *Medicine* 72: 393-406, 1993.
5. Kaneko H and Kondo N: Clinical features of Bloom syndrome and function of the causative gene, BLM helicase. *Expert Rev Mol Diagn* 4: 393-401, 2004.
6. German J: Bloom's syndrome. *Dematol Clin* 13: 7-18, 1995.
7. German J and Ellis NA: Bloom syndrome. In: *The Genetic Basis of Human Cancer*. 1st edition. Vogelstein B and Kinzler (eds) McGraw Hill, New York, NY, pp301-315, 1998.
8. Kaneko H, Isogai K, Fukao T, *et al*: Relatively common mutations of the Bloom syndrome gene in the Japanese population. *Int J Mol Med* 14: 439-42, 2004.
9. Kaneko H, Matsui E, Fukao T, Kasahara K, Morimoto W and Kondo N: Expression of BLM gene in human hematopoietic cells. *Clin Exp Immunol* 118: 285-289, 1999.
10. Chester N, Kuo F, Kozak C, O'Hara CD and Leder P: Stage-specific apoptosis, developmental delay, and embryonic lethality in mice homozygous for a targeted disruption in the murine Bloom's syndrome gene. *Genes Dev* 12: 3382-3393, 1998.
11. Lundin C, North M, Erixon K, Walters K, Jenssen D, Goldman ASH and Helleday T: Methyl methanesulfonate (MMS) produces heat-labile DNA damage but no detectable in vivo DNA double-strand breaks. *Nucleic Acids Res* 33: 3799-3811, 2005.
12. Beamish H, Kedar P, Kaneko H, *et al*: Functional link between BLM defective in Bloom's syndrome and the ataxia-telangiectasia mutated protein, ATM. *J Biol Chem* 277: 30515-30523, 2002.
13. Horowitz DP, Topaloglu O, Zhang Y and Bunz F: Deficiency of Bloom syndrome helicase activity is radiomimetic. *Cancer Biol Ther* 7: 1783-1786, 2008.
14. Oh SD, Lao JP, Hwang PY, Taylor AF, Smith GR and Hunter N: BLM ortholog, Sgs1, prevents aberrant crossing-over by suppressing formation of multichromatid joint molecules. *Cell* 130: 259-272, 2007.
15. Dvalos AR and Campis J: Bloom syndrome cells undergo p53-dependent apoptosis and delayed assembly of BRCA1 and NSB1 repair complexes at stalled replication forks. *J Cell Biol* 29: 1197-1209, 2003.

A rapid screening method to detect autosomal-dominant ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome

To the Editor:

A patient presented to us with autosomal-dominant anhidrotic ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome (EDA-ID). By using a rapid flow cytometric screening system, we detected a novel mutation of the *IKBA* gene in the patient.

Toll-like receptors are one of the major groups of pathogen-associated molecular pattern recognition receptors in the innate

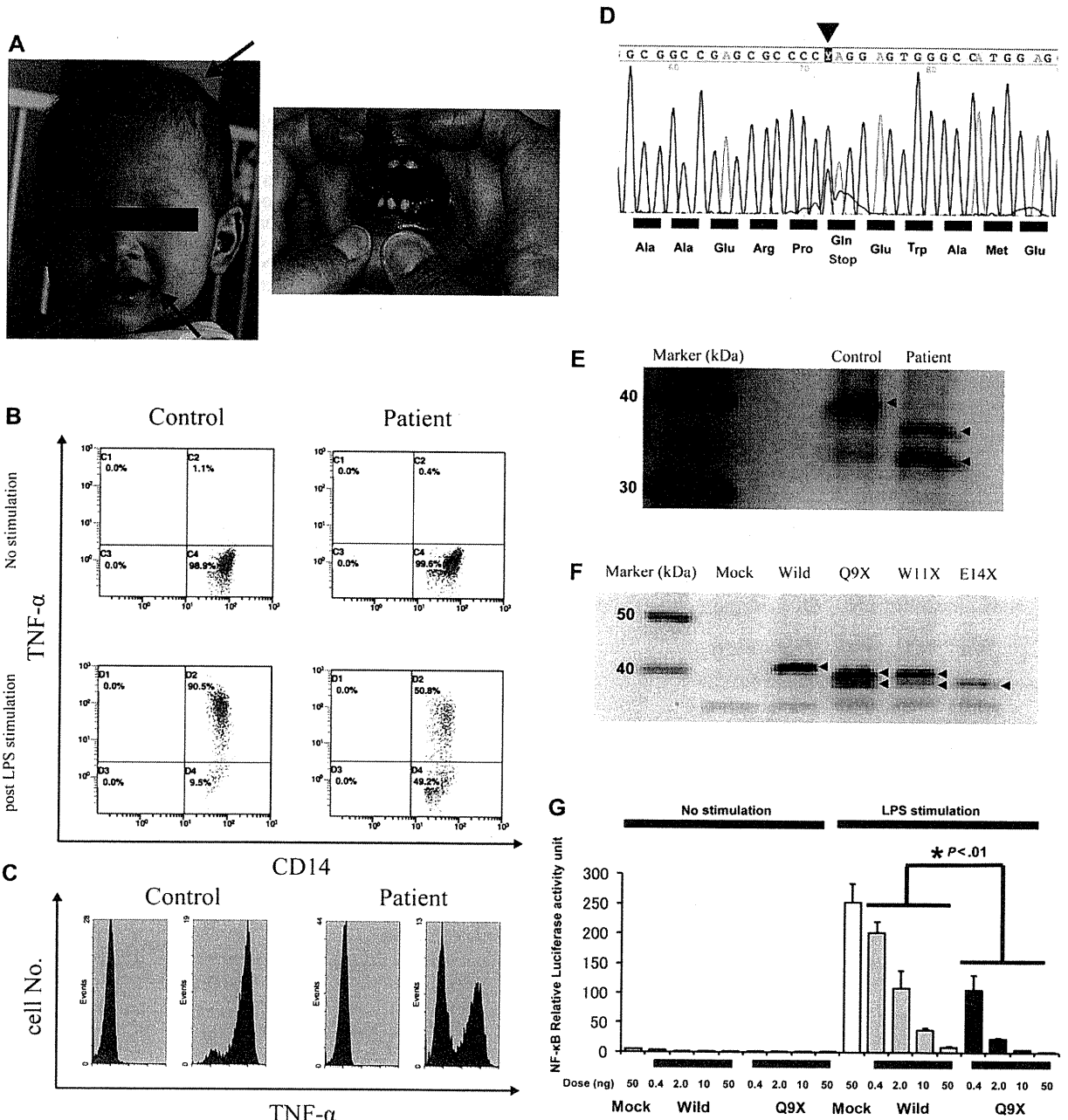


FIG 1. A, External abnormalities of the AD-EDA-ID patient at the age of 16 months. B and C, Flow cytometric analysis of intracellular TNF- α production in CD14⁺ cells in response to LPS stimulation. D, Genetic analysis of the *IKBA*. E and F, Western blot analyses of expressions of wild-type and mutant types I κ B α proteins. G, NF- κ B reporter gene activities.

immune system. Following Toll-like receptor activation, intracellular signaling components such as interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4) and NF-kappa-B essential modulator (NEMO) are sequentially activated. This leads to the degradation of inhibitor of kappa B (IκB), which causes the activation of nuclear factor-kappa B (NF-κB) and expression of inflammatory cytokines.¹ Recently, defects in various components of this signaling pathway have been reported; IRAK4 deficiency was seen to cause high susceptibility to bacterial infections such as *Streptococcus pneumoniae*,² and NEMO deficiency was observed to lead to X-linked recessive anhidrotic ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome.³ In 2003, a hypermorphic mutation of the *IκBα* gene was reported as another causative gene defect for EDA-ID.⁴ As the hereditary form of this disease is autosomal dominant, it is termed AD-EDA-ID.

The patient we assessed was a 5-month-old male infant with some dysmorphism (Fig 1, A). His umbilical separation date was 18 days after his birth. The patient's body temperature regulation was poor because of his anhidrosis. He suffered recurrent infections from his first month, including hepatitis with *Cytomegalovirus* infection, enteritis with *Rotavirus*, bronchiolitis with respiratory syncytial virus, bacterial pneumonia, urinary tract infection, and acute otitis media. His family has no history of primary immunodeficiency. The results of a blood examination at the age of 5 months are shown in Table I. Serum immunoglobulin values were normal for his age. It should be noted that his serum IgA levels, but not IgM levels, increased with age (IgA, 751 mg/dL, and IgM 125, mg/dL at 9 months; normal ranges of IgA and IgM in Japanese infants are 10-56 and 55-200 mg/dL, respectively).

We used a previously described rapid screening method for IRAK4 deficiency syndrome using the patient's blood cells.⁵ Flow cytometric analysis of intracellular TNF-α production in CD14⁺ cells in response to 4 hours of LPS stimulation (1.0 μg/mL) showed a substantially lower proportion of CD14 and TNF-α double-positive cells in the patient than in age-matched healthy subjects (mean, 95.7%; SD, 2.78; n = 10) (Fig 1, B). The histogram of LPS-stimulated TNF-α positive monocytes (blue) of this patient showed a twin peak pattern (mean fluorescence intensity of the peaks, 0.878 and 56.6) compared with the histogram of nonstimulated TNF-α monocytes (red). Monocytes from healthy subjects displayed a single right-shifted peak pattern (mean fluorescence intensity of the peaks, 73.0; SD, 40.2; n = 10) (Fig 1, C).

We next analyzed the *IRAK4*, *MyD88*, *NEMO*, and *IKBA* genes and found a novel mutation (c. 25C>T) (p. Q9X) in the *IKBA* gene (Fig 1, D). The *IRAK4*, *MyD88*, and *NEMO* genes were normal. Other *IKBA* gene mutations have been previously reported in AD-EDA-ID, namely, S32I, W11X, and E14X.^{4,6,7} The serine residues of the N terminus of IκBα, S32 and S36, are functionally important phosphorylation sites. Phosphorylation leads to degradation of this protein and release of active NF-κB. If these residues are substituted or deleted, NF-κB cannot be inactivated by IκBα. Interestingly, a mechanism by which disease onset is caused by gene substitution at the stop codon near the 5' end of the gene sequence has been reported, and this causes a hypermorphic effect of N terminus-truncated IκBα protein.⁶

We confirmed the functional effect of the Q9X mutation in the *IκBα* gene in our patient by analyzing for endogenous IκBα protein in his lysed blood cells. Western blots using an anti-IκBα antibody (C-21, Santa Cruz) showed 2 shorter bands for the

TABLE I. Immunological findings of the AD-EDA-ID patient at the age of 5 months

	Patient	Normal values
Number of blood cells (/μL)		
Leukocytes	21,190	6,000-17,500
Lymphocytes	11,230	4,000-13,500
Monocytes	1,270	Unknown
Lymphocytes subsets (%)		
CD3	59.0	58-84
CD4	31.9	25-54
CD8	23.4	23-56
CD19	33.9	5-24
CD20	34.1	3-20
Serum immunoglobulin levels (mg/dL)		
IgG	930	290-960
IgA	91	7-44
IgM	101	41-161
IgG subclass (%)		
IgG1	60.4	39.3-89.0
IgG2	30.0	7.4-50.4
IgG3	9.1	1.3-12.6
IgG4	0.5	0.1-7.8
Lymphocyte proliferation assay (cpm)*		
First time		
No stimulus	151	70-700
PHA	8,660	26,000-53,000
Con A	1,260	20,000-48,000
Second time		
No stimulus	123	
PHA	24,600	
Con A	11,200	

Con A, Concanavalin A; PHA, phytohemagglutinin.

*Lymphocyte proliferation assay was performed at the age of 10 and 11 months.

patient than for a control subject (Fig 1, E). A subsequent *in vitro* protein expression study on HEK293 cells of C-terminal FLAG-tagged IκBα Q9X and W11X showed 2 shorter bands compared with wild-type IκBα, while IκBα E14X showed a single shorter band. We believe that the 2 bands are likely to be N terminus-truncated IκBα proteins that are translated from M13 (IκBα Δ1-12) or M37 (IκBα Δ1-36) (Fig 1, F). If this is correct, the N terminus-truncated IκBα Δ1-36 should have no serine phosphorylation site. An NF-κB reporter gene activity assay showed a significant dose-dependent inhibitory effect of IκBα Q9X compared with wild-type IκBα on LPS-stimulated Toll-like receptor 4-MD2-CD14 coexpressed HEK293 cells (Fig 1, G). On the basis of these results, we diagnosed this patient as having AD-EDA-ID.

Because NF-κB is an essential component of immune responses, some EDA-ID patients have combined T-cell dysfunction.⁴ There are also reports of EDA-ID patients dying from complications of mycobacterial disease. In addition, NEMO deficiency was recently reported to be one of the candidate deficiencies of Mendelian susceptibility to mycobacterial disease syndrome.⁸ We therefore evaluated the patient's T-cell response by using lymphocyte proliferation assays. Lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin and concanavalin A proliferated only to low levels (Table I). As an additional feature, inflammatory bowel disease has also often been reported in XL-EDA-ID patients. The mechanism of the onset of inflammatory bowel disease with EDA-ID remains unknown, but our AD-EDA-ID patient also showed symptoms of inflammatory bowel disease.