

201231087A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

先天性顆粒放出異常症の病態解明と
診断法の確立に関する研究

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 石井 榮一

平成25(2013)年5月

目 次

I. 総括研究報告

- 先天性顆粒放出異常症の病態解明と診断法の確立に関する研究 ----- 3
石井榮一

II. 分担研究報告

1. 先天性顆粒放出異常症の病態解明と診断法の確立に関する研究 ----- 9
山本 健
2. わが国の X連鎖リンパ増殖症候群タイプ I に対する造血幹細胞移植 ---- 11
金兼弘和
3. 家族性血球貧食生リンパ組織球症と
二次性血球貧食生リンパ組織球症の診断・病態に関する研究 ----- 16
八角高裕
4. 症例の集積、検体採取と保存、解析 ----- 21
藤本純一郎
5. 先天性顆粒放出異常症のリンパ球機能解析に関する研究 ----- 23
安川正貴
6. perforin 欠損 (FHL2) 症の臍帯血移植後の経過と問題点 ----- 28
浅野孝基、世羅康彦、中村和洋、小林正夫

I. 総括研究報告書

先天性顆粒放出異常症の病態解明と診断法の確立

研究代表者 石井榮一 愛媛大学大学院医学系研究科教授

研究要旨 先天性顆粒放出異常症は細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) の顆粒放出の異常によりさまざまな臨床所見を呈する乳幼児の疾患の総称であり、家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL)、Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群 type 2、Hermansky-Pudlak 症候群 type 2、X-linked lymphoproliferative disease (XLP) が含まれる。まず日本におけるChediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、Hermansky-Pudlak 症候群の実態を明らかにし、Chediak-Higashi 症候群15例を集積した。HLH の合併は30%で、CTL 活性低下例がHLHを発症しやすいことが明らかになった。長期生存例は中枢神経合併症を合併するため、現在iPS細胞を樹立してその病態解明を行っている。FHL はその約90%の症例が4種類の遺伝子異常の1つを有しており、FHL2, FHL3が多かった。約10%の遺伝子異常は不明であったが、現在新たな遺伝子異常を抽出しておりその機能解析を進めている。XLP は XLP1, XLP2 共に症例の集積と診断法の確立が進んでいるが、CTL 活性は正常でありそのHLH合併に関する病態は不明である。以上より本研究では日本における先天性顆粒放出異常症の実態を明らかにし、その診断および治療のアルゴリズムを確立した。今後の課題は、Chediak-Higashi 症候群および FHL の未知の遺伝子異常を同定するとともに、疾患特有の合併症の病態を解明し分子標的療法など新たな治療法の開発を進める。先天性顆粒放出異常症は従来の概念と異なった経過をたどりさらには長期生存している例もあることから、将来的には成人を含めた幅広い研究体制の構築が必要と考えられた。

代表者

石井榮一

愛媛大学大学院医学系研究科教授

分担者

安川正貴

愛媛大学大学院医学系研究科教授

藤本純一郎

独立行政法人国立成育医療研究センター
センター長

山本健

九州大学生体防御医学研究所

准教授

八角高裕

京都大学大学院医学研究科講師

小林正夫

広島大学医歯薬総合研究科教授

A. 研究目的

先天性顆粒放出異常症は細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) や NK 細胞の顆粒放出の異常によりさまざまな臨床所見を呈する乳幼児の疾患の総称であり

、家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL)、Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群 type 2、Hermansky-Pudlak 症候群 type 2、X-linked lymphoproliferative disease (FHL) などが含まれる。いずれもリンパ球の分泌顆粒の放出に関わる遺伝子異常が同定されつつあるが、日本における実態とその診断法は確立されていない。本研究の目的は、これら先天性顆粒放出異常症の病態に関わる遺伝子異常の解明と診断および治療法の開発を行うことである。

B. 研究方法

現在組織されている研究会 (HLH 研究会) および小児白血病リンパ腫研究グループ (JPLSG)、免疫不全研究グループ (PIDJ) を中心に症例登録のデータセンターを整備するとともに、病態解明のための機能解析および遺伝子解析を推進し診断法を確立する。具体的には、

- ① 各疾患の登録システムを構築する

- ② 先天性顆粒放出異常症の遺伝子異常の解明とリンパ球機能解析を行い、診断法の標準化を開発する。
- ③ 診断基準を用いた標準的治療法を開発する。

(倫理面への配慮)

本研究事業で行われる研究は、ヘルシンキ宣言および個人情報保護法に則り、各施設倫理委員会およびゲノム審査委員会の承認を得て実施する。

遺伝子治療研究はまだ準備段階であり、可能性が生じた段階で、再度遺伝子治療研究に関する指針の遵守が必要となる

患者及び患者家族に対して研究および治療開始時に統一した説明文を用いて文書による同意を得る。同意説明文では、遺伝子や他の検査の内容、治療の内容、副作用について説明する。さらに、疾患の特徴、検査・治療内容、治療経過についてさらに理解を深めていただくために資料を作成配布し、Web 上でもそれらの情報入手を可能とする。研究目的の検体保存およびその解析は、別途説明文書および同意書を作成し、研究目的と保存期間を明らかにした上で、他の目的には使用しないこと、プライバシーを保護すること、研究期間を過ぎれば検体を破棄することについて説明し、その同意の上で実施する。検体および臨床データは、個人情報を匿名化して取り扱う。

C. 研究結果

- 1) 先天性顆粒放出異常症のうち Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群 type 2、Hermansky-Pudlak 症候群 type 2 の全国調査を行った。その結果、日本では Chediak-Higashi 症候群 15 例の存在が確認された。Chediak-Higashi 症候群は年間 1 例ないし 2 例の新規発症例があると思われる。また Griscelli 症候群 type 2、Hermansky-Pudlak 症候群 type 2 は報告されていないが、色素脱失、易感染を伴う家族歴陽性の家系が数件報告させており、現在その解析を進めているところである。新たな症例については日本小児血液学会疾患登録事業により把握可能な登録システムを構築した。
- 2) Chediak-Higashi 症候群の解析では、従来の報告のように HLH をきたす症例は 30%と少なく、

長期生存例では消化管合併症および中枢神経合併症が多かった。さらにリンパ球機能解析では CTL が低下し顆粒放出機能が欠損している症例があり、CTL 活性低下例は HLH 合併しやすいことが判明した。現在患者から iPS 細胞を樹立し、消化管および中枢神経合併症の成因の解析を進めている。

- 3) 家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL) は症例登録も確立され、HLH 全体では月 1, 2 程度の登録がある。日本における FHL の各亜型の頻度を解析した結果、FHL2, FHL3 が多く約 10%が未知の遺伝子異常であった。未知の遺伝子異常例は全ゲノムシーケンス解析でその同定に全力をあげているが、今回 1 家系に MTX 代謝関連遺伝子の異常が同定された。現在その機能解析により責任遺伝子かどうかの有無を検討中である。また FHL の治療としては骨髄非破壊の前処置を用いた非血縁臍帯血移植が最もすぐれた治療法と考えられた。今後はこの結果を参考に、FHL に対する標準的治療を開発する予定である。
- 4) X-linked lymphoproliferative disease (XLP) は XIAP 異常による XLP 2 が集積された。また日本では XLP1 が多いことを証明した。XLP は HLH の合併が多いことから、欧米では FHL の亜型ではないかと報告されている。そこで今回 XLP のリンパ球機能解析を行った結果、XLP1, XLP2 共に顆粒放出および CTL 活性は正常であることが明らかになった。XLP におけるリンパ球機能と血球貪食との関連性は明らかではないが、今後さらに詳細を検討していく必要がある。

以上より日本における顆粒放出異常症の実態と問題点が明らかになった。また先天性顆粒放出異常症の診断および治療のアルゴリズムを作成することが出来た。

D. 考察

先天性顆粒放出異常症の日本における実態を初めて明らかにした。その結果、

- 1) 日本における顆粒放出異常症は血球貪食症候群を合併する FHL と血球貪食以外の特有の合併症をきたす Chediak-Higashi 症候群が存

在する。Griscelli 症候群 type 2、Hermansky-Pudlak 症候群 type 2 は現在調査研究を進めているところである。

- 2) その多くは遺伝子異常が同定されているが、Chediak-Higashi 症候群の約 2/3 の症例、および FHL の約 10% の遺伝子異常は不明であり、早急に同定解析を進める必要がある。
- 3) 治療に関しては、FHL では骨髄非破壊的前処置を用いた臍帯血移植が最も適切な治療法と考えられる。Chediak-Higashi 症候群は移植が行われているが神経合併症の進行は防げないため、iPS による病態解析で新たな治療法を開発する必要がある。
- 4) FHL, Chediak-Higashi 症候群では長期生存例があることから成人にも多くの未診断例がいる可能性があり実態調査の範囲を広げていく必要がある
- 5) 診断および治療アルゴリズムは確立できたものの、将来的には遺伝子治療を含めた新たな治療法の開発が必要である

E. 結論

先天性顆粒放出異常症の日本における実態が明らかになり、その診断・治療アルゴリズムを確立した。またその多くで遺伝子異常およびリンパ球機能の異常も解析された。

今後は合併症を中心にその病態を明らかにするとともに、副作用の少ない新たな治療法を確立していく必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 論文発表

- 1 Kanegane H, Yang X, Zhao M, Yamato K, Inoue M, Hamamoto K, Kobayashi C, Hosono A, Ito Y, Nakazawa Y, Terui K, Kogawa K, Ishii E, Sumazaki R, Miyawaki T (2012) Clinical features and outcome of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (SAP deficiency) in Japan identified by the combination of flow cytometric assay and genetic analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 23: 488-493
- 2 Nishi M, Nishimura R, Suzuki N, Sawada A, Okamura T, Fujita N, Kanai R, Yano J, Adachi S, Yasumi T, Sato E, Yasutomo K, Ishii E, Ohga S (2012) Reduced intensity conditioning in unrelated donor cord blood transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol* 87: 637-639
- 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 (2012) Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol* 32: 411-420
- 4 Asano T, Kogawa K, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Kudo K, Ohta S, Wakiguchi H, Tabuchi K, Kato S, Ishii E (2011) Hemophagocytic lymphohistiocytosis after hematopoietic stem cell transplantation in children: a nationwide survey in Japan. *Ped Blood Cancer* 59: 110-114
- 5 Yanagimachi M, Goto H, Miyamae T, Kadota K, Imagawa T, Mori M, Sato H, Yanagisawa R, Kaneko T, Morita S, Ishii E, Yokota S (2011) Association of *IRF5* polymorphisms with susceptibility to hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. *J Clin Immunol* 31: 946-951
- 6 Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K, Saito M, Nishikomori R, Ohara O, Ishii E, Nakahata T, Horiuchi H, Heike T (2011) Rapid diagnosis of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein. *Blood* 118: 1225-1230
- 7 Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R, Honda T, Ishii E, Koike K (2011) Detection of T-cell receptor gene rearrangement in children with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis using the IOMED-2 multiplex polymerase chain reaction combined with GeneScan analysis. *Clin Chim Acta* 412: 1554-1558
- 8 Nagai K, Yamamoto K, Fujiwara H, An J, Ochi T, Suemori K, Yasumi T, Tsuchi H, Koh K, Sato M, Morimoto A, Heike T, Ishii E, Yasukawa M

(2010) Subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes. PLoS ONE 5: e14173

2. 著書

1. 石井榮一 (2011) 血球貪食症候群の病態と治療の新たなる展開、血液内科、63: 621-626
2. 石井榮一 (2012) 家族性血球貪食性リンパ組織球症、血液症候群 III—その他の血液疾患を含めて—第2版、日本臨床(印刷中)
3. 石井榮一、永井功造 (2012) 血球貪食症候群: 病態研究の現状と展望、日本臨床、70: 1059-1067

3. 講演

1. Ishii E (2012) Congenital lytic granule syndrome, The 6th Seminar on Histiocytosis and Pediatrics MDS, January, 2012, Seoul, Korea
2. Ishii E (2012) Successful treatment of EBV-HLH, VII International Conference on Rare Diseases and Orphan Drugs, February, Tokyo, Japan

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

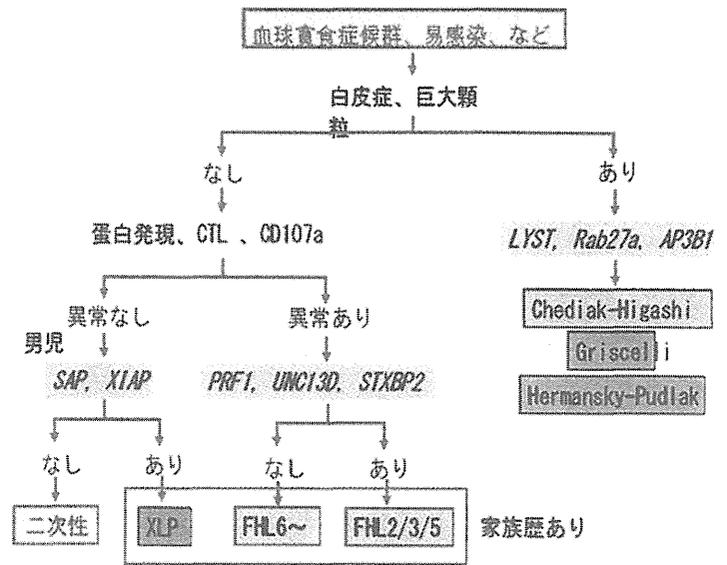
なし

3. その他

なし

し

先天性顆粒放出異常症の診断アルゴリズム



研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト (参考)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
石井榮一	血球貪食症候群の病態と治療の新たな展開		血液内科			2011	63: 621-626
石井榮一	家族性血球貪食性リンパ組織球症、血液症候群III—その他の血液疾患を含めて		日本臨床			2013	印刷中
石井榮一、永井功造	血球貪食症候群:病態研究の現状と展望		日本臨床			2012	70: 1059-1067

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishi M, Nishimura R, Suzuki N, Sawada A, Okamura T, Fujita N, Kanai R, Yano J, Adachi S, Yasumi T, Sato E, Yasutomo K, Ishii E, Ohga S	Reduced intensity conditioning in unrelated donor cord blood transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis.	Am J Hematol	J87	637-639	2012
Asano T, Kogawa K, Morimoto A, Ishida Y, Suzuki N, Ohga S, Kudoh K, Ohta S, Wakiguchi H, Tabuchi K, Kato S, Ishii E	Hemophagocytic lymphohistiocytosis after hematopoietic stem cell transplantation in children: a nationwide survey in Japan.	Ped Blood Cancer	59	110-114	2011
Yanagimachi M, Goto H, Miyamae T, Kadota K, Imagawa T, Mori M, Sato H, Yanagisawa R, Kaneko T, Morita S, Ishii E, Yokota S	Association of <i>IRF5</i> polymorphisms with susceptibility to hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. <i>J Clin Immunol</i>	J Clin Immunol	31	946-951	2011

<p>Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K, Saito M, Nishikomori R, Ohara O, <u>Ishii E</u>, Nakahata T, Horiiuchi H, Heike T</p>	<p>Rapid diagnosis of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3 (FHL3) by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein.</p>	<p>Blood</p>	<p>118</p>	<p>1225-1230</p>	<p>2011</p>
<p>Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R, Honda T, <u>Ishii E</u>, Koike K</p>	<p>Detection of T-cell receptor gene rearrangement in children with Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis using the IOMED-2 multiplex polymerase chain reaction combined with GeneScan analysis.</p>	<p>Clin Chim Acta</p>	<p>412</p>	<p>1554-1558</p>	<p>2011</p>

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)）
分担研究報告書

先天性顆粒放出異常症の病態解明と診断法の確立

先天性顆粒放出異常症のゲノム解析

研究分担者 山本 健（九州大学生体防御医学研究所 准教授）

研究要旨

先天性顆粒放出異常症には、家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL)、Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、X-linked lymphoproliferative disease などが含まれるが、その原因遺伝子変異の全貌解明には到っていない。本年度は、優性遺伝様式を示す原因遺伝子変異不明の顆粒放出異常症疑い家系を対象として、Griscelli 症候群の責任遺伝子であるRAB27a、ならびにHermansky-Pudlak 症候群の責任遺伝子であるAP3B1遺伝子の変異スクリーニングを行った。その結果、RAB27aの全エクソン、およびAP3B1遺伝子の27エクソン中25エクソンに変異を認めず、他の新規顆粒球放出関連遺伝子異常を有する家系である可能性が示唆された。

A. 研究目的

先天性顆粒放出異常症には、家族性血球貪食性リンパ組織球症、Chediak-Higashi症候群、Griscelli 症候群、X-連鎖リンパ球増殖症などが含まれるが、その原因遺伝子変異の全貌解明には到っていない。したがって、日本におけるこれらの疾患の実態とその診断法確立のためには、それぞれの疾患についての責任遺伝子変異同定がまず不可欠である。

本分担研究の目的は、連鎖解析などの遺伝学解析あるいは機能的解析によって得られた候補遺伝子の塩基配列を解析し、これら先天性顆粒放出異常症発症に関わる遺伝子異常を解明することである。このことにより、本疾患群の病態解明とそれに基づく新規診断法の確立が期待される。

B. 研究方法

Griscelli 症候群あるいは Hermansky-Pudlak 症候群が疑われる症例を含む一家系4検体を対象として、それぞれの原因遺伝子である RAB27a および AP3B1 遺伝子の変異スクリーニングを行った。RAB27a (6 エクソン)、AP3B1 (27 エクソン) をエクソン・イントロン接合部を含む範囲で PCR によって増幅し、直接塩基配列決定法にて塩基配列情報を取得した。ヒトゲノムデータベースを参照配列とし、CrystalW および目視によってヘテロおよびホモ接合変異の有無を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究事業で行われる研究は、ヘルシンキ宣言、個人情報保護法に則り、各施設倫理委員会およびゲノム審査委員会の承認を得て実施している。

C. 研究結果

RAB27a 遺伝子 6 エクソンおよび AP3B1 遺伝子 25 エクソンに変異を認めなかった。AP3B1 遺伝子の残り 2 エクソンについては、PCR 増幅条件の再検討を進め、最終結果を確定する。

D. 考察

AP3B1 遺伝子については確定的ではないが、本家系の原因遺伝子として、RAB27a 遺伝子は否定され、また AP3B1 遺伝子の可能性は低い。したがって、本家系はこれまで知られていない新規の原因遺伝子変異を有していることが示唆される。

E. 結論

本研究の解析対象となった家系は、RAB27a 遺伝子および AP3B1 遺伝子以外の原因遺伝子を有している可能性が高く、新規変異同定に資する貴重な試料である。

F. 研究発表

論文発表

1. Honma N, Yamamoto K, et al. Estrogen receptor-beta gene polymorphism and colorectal cancer risk: effect modified by body mass index and isoflavone intake. *Int J Cancer*. 2013; 132: 951-958.
2. Kitajima H, Sonoda M, Yamamoto K. HLA and SNP haplotype mapping in the Japanese population. *Genes Immun*. 2012; 13: 543-548.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

特記事項なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌	巻号	ページ	出版年
Kitajima et al.	HLA and SNP haplotype mapping in the Japanese population.	Genes Immun.	13巻7号	543-548	2012

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)）
分担研究報告書

先天性顆粒放出異常症の病態解明と診断法の確立

わが国の X 連鎖リンパ増殖症候群タイプ 1 に対する造血幹細胞移植
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（XLP）タイプ1は致死性伝染性単核症、異常ガンマグロブリン血症、悪性リンパ腫を臨床的三徴とする稀な原発性免疫不全症であり、*SH2D1A* を原因遺伝子とする。生命予後は不良であり、造血幹細胞移植（HSCT）が唯一の根治療法であるが、適切な移植時期ならびに移植方法は明らかではない。これまでわが国では21家系33例のXLP1が同定されているが、そのうち12例がHSCTを受け、11例（92%）が生存している。移植を受けなかった患者は全例死亡していることから、XLP1と診断された場合にはできるだけ速やかにHSCTを行うこと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 は致死性伝染性単核症、異常ガンマグロブリン血症、悪性リンパ腫を臨床的三徴とする稀な原発性免疫不全症であり、*SH2D1A* を原因遺伝子とする。生命予後は不良であり、造血幹細胞移植（HSCT）が唯一の根治療法であるが、適切な移植時期ならびに移植方法は明らかではない。そこでこれまで当教室で診断した XLP1 患者における HSCT の治療成績を明らかにすることを本研究の目的とする。

B. 研究方法

これまで当教室ではフローサイトメトリーならびに遺伝子解析によって 21 家系 33 例の XLP1 患者を同定している。各主治医に患者の臨床像ならびに移植方法、生死の有無についてアンケート調査を行った。

（倫理面への配慮）

本研究はヒト検体を用いて解析を行うものであり、検体量および採取時の苦痛には十分な配慮を行った。遺伝子解析については各種指針を遵守して、患者個人情報保護について十分な配慮を行った。

C. 研究結果

12 例が HSCT を受け、1 例は緑膿菌による敗血症、多臓器不全のため早期に死亡したが、11 例は生存している（表 1）。2 例は HLA 一致同胞からであったが、他の症例は HLA 一致または 1 座不一致非血縁またはミスマッチ血縁者からの HSCT であった。5 例は骨髄破壊の前処置（MAC）による HSCT が行われ、その他の症例は治療強度を減弱した前処置（RIC）による HSCT が行われた。急性 GVHD は 11 例中 6 例で観察され、Grade III 以上は 1 例のみであった。慢性 GVHD は 5 例で認められ、4 例で extensive type であった。全例完全キメラが得られた。

表 1 わが国の XLP1 における HSCT

Patient ID	Age at HSCT	Donor	Source	Conditioning regimen	GVHD prophylaxis	acute GVHD	chronic GVHD	Outcome
1.2	7 y	MSD (6/6)	FBSC	TBI+CY	CaA-MTX	Grade I	extensive	Alive (44.8 m)
7.2	24 y	MSD (6/6)	BM	B2+CY+ATG	CaA-MTX	Grade II	extensive	Alive (6 y 6 m)
9.1	8 y	MSD (6/6)	BM	B2+CY	Flu-MTX	none	none	Alive (10 y 6 m)
9.2	6 y	mMFD (3/6)	BM	TBI+GvH+AmgKp	MMP+MTX+mPSL	NE	NE	Deaf (14.4)
10.1	4 y	mMUD (3/6)	BM	B2+CY+AmgKp	Flu-MTX	Grade II	extensive	Alive (11 y 2 m)
10.2	1 y	MSD (6/6)	BM	B2+TAI+Bu+Cy+ATG	Flu-MTX	none	none	Alive (2 y 6 m)
11.3	8 m	mMUD (3/6)	FBSC	Flu+M4+ATG+TAI+GvH	Flu+M+Flu+mPSL	Grade II	none	Alive (5 y 2 m)
14.1	10 y	MSD (6/6)	BM	B2+CY	CaA-MTX	Grade III	limited	Alive (8 y 2 m)
16.1	11 y	mMUD (3/6)	BM	B2+TAI+Bu+Flu+Cy+ATG	Flu-MTX	none	none	Alive (1 y 6 m)
17.2	3 y	mMUD (3/6)	BM	Flu+M4+Flu+GvH	Flu-MTX	Grade I	none	Alive (8 y 10 m)
18.1	7 y	MSD (6/6)	BM	Flu+M4+Flu+GvH	Flu-MTX	none	attenuated	Alive (5 y 7 m)
19.3	15 y	MSD (6/6)	BM	Flu+M4+Flu+GvH	Flu-MTX	none	none	Alive (2 y 7 m)

Abbreviations: y, years; m, months; MSD, matched sibling donor; MUD, matched unrelated donor; mMUD, mismatched familial donor; mMUD, mismatched unrelated donor; FBSC, peripheral blood stem cells; BM, bone marrow; TBI, total body irradiation; CY, cyclophosphamide; Fl, flutamide; ATG anti-thymocyte globulin; VT, venipuncture; GvH, graft-versus-host disease; CaA, cyclosporin A; MTX, methotrexate; Flu, flutamide; MMP, mycoplasma free medium; mPSL, methylprednisolone; NE, not evaluated; d, day.

D. 考察

HSCT が施行されなかった 21 例の患者はすべて原疾患あるいは合併症で死亡していた。HSCT を受けた 12 例中 11 例が生存しており、過去の報告例の成績と同等であった (図 1)。ドナーとして非血縁者は血縁者と同等の結果であった。さまざまな前処置が行われていたが、半数以上が RIC で行われており、RIC と MAC とで成績の差がなく、治療関連毒性を回避するためには RIC による HSCT が望ましいと思われる。今回 2 例の患者では家族歴から速やかに診断され、XLP 発症前に 1 歳前後に HSCT が行われた。

28th Annual Meeting of the Histocyte Society, 2012, London, UK.

G. 知的財産権の出願・登録状況 特になし

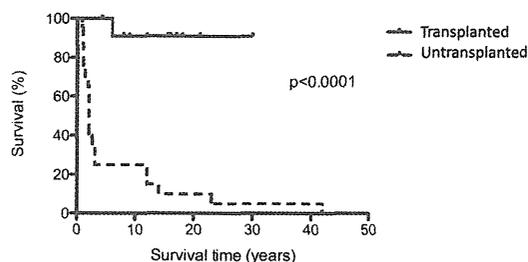


図 1 わが国の XLP1 患者の生存曲線

E. 結論

XLP1 患者の予後は不良であり、診断後は速やかに血縁あるいは非血縁ドナーから RIC による HSCT が望ましいと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kanegane H, Yang X, Zhao M, Yamato K, Inoue M, Hamamoto K, Kobayashi C, Hosono A, Ito Y, Nakazawa Y, Terui K, Kogawa K, Ishii E, Sumazaki R, Miyawaki T. Clinical features and outcome of X-linked lymphoproliferative syndrome type1 (SAP deficiency) in Japan identified by the combination of flow cytometric assay and genetic analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 23: 488-493, 2012.

2. 学会発表

1) Kanegane H, Yang X, Nishida N, Ishii E, Miyawaki T. Clinical features and outcome of X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (SAP deficiency) and type2 (XIAP deficiency) in Japan. The

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
金兼弘和	原発性免疫不全症.	大関武彦他	今日の小児治療指針第15版	医学書院	東京	2012	282-283
金兼弘和	免疫不全症・4.免疫調節障害.	原 寿郎	小児の発熱A to Z-診断治療のTipsとPitfalls-	診断と治療社	東京	2012	174-177
金兼弘和	4.X連鎖リンパ増殖症候群(XLP).	近藤直実、平家俊男	自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患	診断と治療社	東京	2012	163-165
金兼弘和	Case 15. X連鎖リンパ増殖症候群(XLP)..	近藤直実、平家俊男	自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患	診断と治療社	東京	2012	230-233
西田直徳, 金兼弘和	コロナウイルス, ブニアウイルス, JCウイルス, プリオン	日本小児感染症学会	小児感染症マニュアル	東京医学社	東京	2012	548-561

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kanegane H, Yang X, Zhao M, Yamato K, Inoue M, Hamamoto K, Kobayashi C, Hosono A, Ito Y, Nakazawa Y, Terui K, Kogawa K, Ishii E, Sumazaki R, Miyawaki T.	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	23	488-493	2012
Otsubo K, Horie S, Nomura K, Miyawaki T, Abe A, Kanegane H.	Acute promyelocytic leukemia following aleukemic leukemia cutis harboring NPM/RARA fusion gene.	Pediatr Blood Cancer	59	959-960	2012
Yang X, Wada T, Imadome K, Nishida N, Mukai T, Fujiwara M, Kawashima H, Kato F, Fujiwara S, Yachie A, Zhao X, Miyawaki T, Kanegane H.	Characterization of Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in two patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and type 2.	Herpesviridae	3	1	2012
Yang X, Kanegane H, Nishida N, Imamura T, Hanamoto K, Miyashita R, Imai K, Nonoyama S, Sanayama K., Yamashide A, Kato F, 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	32	411-420	2012

Honda F, Kano H, <u>Kanegane H</u> , Nonoyama S, Kim ES, Lee ES, Takagi M, Mizutani S, Morio T.	The kinase Btk negatively regulates the production of reactive oxygen species and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils.	Nat Immunol	13	369-378	2012
Shimizu M, Kuroda M, Sakashita N, Konishi M, Kaneda H, Igarashi N, Yamahana J, Taneichi H, <u>Kanegane H</u> , Ito M, Saito S, Ohta K, Taniguchi T, Furuichi K, Wada T, Nakagawa M, Yokoyama H, Yachie A.	Cytokine profiles of patients with enterohemorrhagic Escherichia coli O111-induced hemolytic-uremic syndrome.	Cytokine	60	694-700	2012
Oshima K, Nagase T, Imai K, Nonoyama S, Obara M, Mizukami T, Nunoi H, <u>Kanegane H</u> , Kuribayashi F, Amemiya S, Ohara O.	A dual reporter splicing assay using HaloTag-containing proteins.	Curr Chem Genomics	6	27-37	2012
Nakaoka H, <u>Kanegane H</u> , Taneichi H, Miya K, Yang X, Nomura K, Takezaki S, Yamada M, Ohara O, Kamae C, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yachie A, Hershfield MS, Ariga T, Miyawaki T.	Delayed onset adenosine deaminase deficiency associated with acute disseminated encephalomyelitis.	Int J Hematol	95	692-696	2012
Mohammadzadeh I, Yeganeh M, Aghamohammadi A, Parvaneh N, Behniafard N, Abolhassani H, Tabassomi F, Hemmati M, <u>Kanegane H</u> , Miyawaki T, Ohara O, Rezaei N.	Severe primary antibody deficiency due to a novel mutation of micro heavy chain..	J Investig Allergol Clin Immunol	22	78-79	2012
<u>Kanegane H</u> , Taneichi H, Nomura K, Wada T, Yachie A, Imai K, Ariga T, Santisteban I, Hershfields MS, Miyawaki T.	Successful bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency.	Pediatr Transplant	17	E29-E32	2013
Morimoto A, Shimazaki C, Takahashi S, Yoshikawa K, Nishimura R, Wakita H, Kobayashi Y, <u>Kanegane H</u> , Tojo A, Imamura T, Imashuku S.; Japan LCH Study Group.	Therapeutic outcome of multifocal Langerhans cell histiocytosis in adults treated with the Special C regimen formulated by the Japan LCH Study Group.	Int J Hematol	97	103-108	2013

Nomura K, Hoshino A, Miyawaki T, Hama A, Kojima S, <u>Kanegane H.</u>	Neutropenia and myeloid dysplasia in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency.	Pediatr Blood Cancer.		In press	
Shimizu M, <u>Kanegane H.</u> , Wada T, Motoyoshi Y, Morio T, Candotti F, Yachie A.	Aberrant glycosylation of IgA in Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia.	J Allergy Clin Immunol	131	587-590	2013
Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsui N, Ohara O, <u>Kanegane H.</u> , Pasic S, Pan-Hammarström Q, van Zelm MC, Morio T, Imai K, Nonoyama S.	Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin κ -deleting recombination excision circles.	J Allergy Clin Immunol		In press	
Marsh RA, Rao K, Satwani P, Lehmborg K, Müller I, Li D, Kim MO, Fischer A, Latour S, Sedlacek P, Barlogis V, Hamamoto K, <u>Kanegane H.</u> , Milanovich S, Margolis DA, Dimmock D, Casper J, Douglas DN, Amrolia PJ, Veys P, Kumar AR, Jordan MB, Bleesing JJ, Filipovich AH.	Allogeneic hematopoietic cell transplantation for XIAP deficiency: an international survey reveals poor outcomes.	Blood	121	887-883	2013
星野顕宏, <u>金兼弘和</u> , 西田直徳, 野村恵子, 大賀正一, 宮脇利男	抗菌薬投与により治癒し得た再発性肝膿瘍を合併した慢性肉芽腫症の一例.	小児感染免疫	24	175-179	2012
道野淳子, 中出祥代, 佐竹伊津子, 西野主眞, 安村 敏, 芳村直樹, 野村恵子, <u>金兼弘和</u>	重症複合免疫不全症2例における同種骨髄細胞移植後のキメリズム解析.	日本輸血細胞治療学会誌	58	704-709	2012

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)）
分担研究報告書

先天性顆粒放出異常症の病態解明と診断法の確立

家族性血球貪食性リンパ組織球症と二次性血球貪食性リンパ組織球症の診断・病態に関する研究

研究分担者：八角高裕

(京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学講師)

研究要旨： FHL と二次性 HLH の病態解明と、HLH 診療に於いて FHL を示唆・除外する目安となる所見の検索を目的とし、当科で FHL スクリーニングを施行した HLH 症例を対象として発病早期の一般臨床検査値を比較検討した。初回骨髄検査に於いて血球貪食所見が陽性である割合は FHL に於いては約半数に留まり、EBV-HLH や MAS 症例より陽性率が低い事が判明した。発病初期に於ける白血球分画・ferritin・sIL-2R を検討した所、FHL 症例では全例が(リンパ球)/(好中球)比が 1 以上であり、sIL-2R の上昇に比して ferritin 値は低値に留まる事が明らかとなり、これはリンパ球の過剰活性化を基本病態とする FHL の特徴を反映しているものと思われた。一方、二次性 HLH の(リンパ球)/(好中球)比は 1 以下である症例が多く、sIL-2R に比して ferritin の上昇が著しい症例が存在する事が判明し、特に MAS 症例や新生児 HSV-HLH 症例にこの傾向が強い事が判明した。EBV-HLH には一定の傾向が認められなかった。FHL と二次性 HLH の発症機構には大きな違いがある事が示唆され、今後の病態解明に向けた新たな視点が示されると同時に、診断と治療方針決定の参考となる可能性が示唆された。

H. 研究目的

血球貪食性リンパ組織球症(HLH)は、感染や膠原病などに続発する二次性のものと、遺伝的素因による原発性のものとに大別される。家族性血球貪食症候群(FHL)は単一遺伝子異常を原因とする原発性 HLH の代表疾患であり、NK 細胞や細胞傷害性 T 細胞(CTL)の細胞傷害活性に関与する分子の異常が原因である。FHL の基本病態は、細胞傷害活性の低下した CTL が過剰に活性化し、過剰なサイトカインを産生する事であると考えられているが、動物モデルでの検討が中心であり、実際の症例での検討は不充分である。加えて、FHL と二次性 HLH の病態に関する比較検討は殆ど為されていない。FHL と二次性症例の鑑別は治療方針の決定の為にも重要であるが、一般検査による両者の鑑別は不可能と考えられており、診断に手間取る事も多い。この様な現状を背景とし、

FHL と二次性 HLH の病態解明と、一般臨床に役立つ FHL と二次性 HLH それぞれの特徴を見出す事を目的とし、各病型の発病早期の一般臨床検査結果を比較検討した。

I. 研究方法

2008 年 8 月より 2013 年 2 月の間に当科で FHL スクリーニングを行った 209 症例の内、HLH-2004 プロトコールによる HLH 診断基準を満たし、アンケートにより発症早期の臨床データが得られた症例を対象とした。症例の内訳は、FHL:20 症例(FHL2:8 症例、FHL3:12 症例)と二次性 HLH:54 症例であり、二次性症例の内訳は、EB ウィルス関連 HLH(EBV-HLH):28 症例、マクロファージ活性化症候群(MAS):6 症例、新生児 HSV-HLH:4 症例、原因不明:16 症例であった。

(倫理面への配慮)

研究を行うに当たり、当大学倫理委員会の指針に基づき、承認を得て informed consent を取得のうえ行った。

J. 研究結果

NK 活性は、急性期には二次性 HLH 症例でも一時的に低下している症例が多く、FHL 症例でもほぼ正常の活性を示す場合があった。初回骨髓検査で有意な血球貪食像を認めた症例は、FHL 症例：8/19 に対して EBV-HLH 症例：27/28 と MAS 症例：5/6 と多く、新生児 HSV-HLH：2/2、原因不明症例：9/14 であった。又、AST や LDH 等の溢脱酵素は、FHL より二次性 HLH 症例に於いて高かった。発病初期に於ける白血球分画・ferritin・sIL-2R を各病型間で比較検討した所、FHL 症例では全例が(リンパ球)/(好中球)比が 1 以上であり、sIL-2R/ferritin 比も一例を除いて 1 以上であった。一方、二次性 HLH 症例の(リンパ球)/(好中球)比は 1 以下である症例が多く、sIL-2R の値に比して ferritin の上昇が著しい症例が存在する事が判明し、特に MAS 症例や新生児 HSV-HLH 症例にこの傾向が強いことが判明した。EBV-HLH 症例や原因不明症例に於いては、明らかな傾向は認められなかった。

K. 考察

HLH の診断は、原発性・二次性に関わらず共通の診断基準により為される事が多く、一般的にその病態には共通点が多いと認識されている。また、NK 活性の低下が FHL の特徴と考えられている事が多く、その病名から FHL では骨髓での血球貪食像が必発であると認識されている傾向がある。今回の検討より、NK 活性の低下は二次性症例にも多く認められる事、並びに FHL 症例では初回の骨髓検査では血球貪食像を認めない症例が半数近く存在する事が明らかとなり、臨床現場への注意を喚起する所見と思われる。又、FHL 症例では、病初期に於いては全例が(リンパ球)/(好中球)比が 1 以上であり、sIL-2R/ferritin 比も一例を除いて 1 以上であった。これはリンパ球の過剰活性化が FHL の基本病態であるとする動物実験の

結果を裏付けるものと思われた。一方、二次性 HLH 症例の(リンパ球)/(好中球)比は 1 以下である症例が多く、sIL-2R の値に比して ferritin の上昇が著しい症例が存在し、特に MAS 症例と新生児 HSV-HLH 症例にこの傾向が強いことが判明した。これら二次性 HLH の病態は基本的に FHL のそれとは異なる事が示唆された。興味深い事に EBV-HLH 症例には明らかな傾向が認められず、この原因として、感染ウィルス量や感染細胞の違いが考えられたが、今回の研究では十分な情報が得られず解析は困難であった。FHL と二次性 HLH の発症機構には大きな違いがある事が示唆され、今後の病態解明に向けた新たな視点が示されると同時に、FHL を含めた HLH 症例の診断と治療方針決定の参考となる可能性が示唆された。

L. 結論

FHL と二次性 HLH の発症機構には大きな違いがある事が示唆され、今後の病態解明に向けた新たな視点が示されると同時に、診断と治療方針決定の参考となる可能性が示唆された。

研究発表

1. 論文発表

1. Robust and highly-efficient differentiation of functional monocytic cells from human pluripotent stem cells under serum- and feeder cell- free conditions. Yanagimachi MD, Niwa A, Tanaka T; Ozaki F, Nishimoto S, Murata Y, Yasumi T, Ito J, Tomida S, Oshima K, Asaka I, Goto H, Heike T, Nakahata T, Saito MK. PLoS One. In press.
2. Dominant-negative STAT1 SH2 domain mutation s in unrelated patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease. Tsumura M, Okada S, Sakai H, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Kong XF, Abhyankar A, Heike T, Nakahata T, Nishikomori R, Al-Muhsein S, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Alzahrani M, Shehri MA, Elghazali G, Takihara Y, Kobayashi M. Hum Mutat. 33(9):1377-87.2012

3. Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency. Kawai T, Nishikomori R, Izawa K, Murata Y, Tanaka N, Sakai H, Saito M, Yasumi T, Takaoka Y, Nakahata T, Mizukami T, Nunoi H, Kiyohara Y, Yoden A, Murata T, Sasaki S, Ito E, Akutagawa H, Kawai T, Imai C, Okada S, Kobayashi M, Heike T. *Blood*. 119:5458-66. 2012
4. Multiple reversions of an IL2RG mutation restore T cell function in an X-linked severe combined immunodeficiency patient. Kawai T, Saito M, Nishikomori R, Yasumi T, Izawa K, Murakami T, Okamoto S, Mori Y, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yachie A, Ohmori K, Nakahata T, Heike T. *J Clin Immunol*. 32:690-7. 2012
5. Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massively parallel sequencing. Izawa K, Hijikata A, Tanaka N, Kawai T, Saito MK, Goldbach-Mansky R, Aksentijevich I, Yasumi T, Nakahata T, Heike T, Nishikomori R, Ohara O. *DNA Res*. 19:143-52. 2012
6. 堀内久徳、白川龍太郎、八角高裕 血小板顆粒放出の分子メカニズム *臨床血液* 53:664-671. 2012
7. 八角高裕 家族性血球貪食症候群のスクリーニング検査 *血液フロンティア* 23:27-32. 2013

2. 学会発表

Yasumi T. Diagnosing FHLs among HLHs: Current status and future direction.

第54回日本小児血液・がん学会学術集会

M. 知的財産権の出願・登録状況

なし