

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究

研究分担者 小原 収 (公財)かずさ DNA 研究所 副所長

研究要旨

感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソースなどこれまでに蓄積されたデータをもとに前向き研究を行い、原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立するために、本分担研究では臨床情報アーカイブである PIDJ の維持・改良と、それぞれの症例の遺伝子検査結果を対応付けできるような情報基盤の構築を行った。

A. 研究目的

原発性免疫不全症では、移植時に感染症を併発する事が多く、感染症を抱えたままの移植になるケースがあるだけでなく、DNA 修復障害が基礎にある疾患では、前処置の強度を最低限にしなければならないなどの注意が必要である。また HLA 不一致の移植を行わざるを得ないことも多く、GVHD も起こしやすい。このように、造血幹細胞移植の中で解決すべき問題点が多い疾患である。

そこで、感染症のコントロール、前処置の方法、移植後の免疫抑制剤使用法、ドナーソースなどこれまでに蓄積されたデータをもとに前向き研究を行い、原発性免疫不全症の至適な造血幹細胞移植法を確立することを目的とする。今年度の本分担研究では、この前向き研究のための情報基盤の整備を目的とした。

B. 研究方法

・原発性免疫不全症候群に関する調査研究班と連携し、臨床アーカイブであるPIDJ (<http://pidj.rcai.riken.jp/index.html>) へ

の登録推進を行うとともに、理化学研究所のPIDJ運用グループと連携しながら、今回の前向き研究も視野に入れたPIDJの維持・改修を進める。

・移植プロトコルの確立を視野に入れた患者登録のための臨床アーカイブとしての PIDJ 更新に呼応して、個々の症例の遺伝的な背景の情報を対応付けられるように、PIDJ の臨床アーカイブ情報とかずさ DNA 研究所で得られた遺伝子解析結果情報をリンクできるようにかずさ DNA 研究所側での情報統合のための基盤整備を進める。

(倫理面への配慮)

当分担研究のために、かずさDNA研究所の倫理審査委員会において、既知遺伝子の遺伝子検査だけでなく、全エクソンシーケンシングと RNA シーケンシングによる免疫不全症遺伝的原因探索についても審査を受け、既に承認を得ている。なお、本分担研究で実際に扱う情報はすべて匿名化されており、かずさDNA研究所では連結

不可能な情報ではあるが、その取扱いにおいては関係者のみがアクセスできるようにセキュリティー管理を施した情報システム内で運用した。

C. 研究結果

既存の原発性免疫不全症臨床アーカイブのPIDJに検査項目の追加、患者情報の一括更新、情報登録時の担当医師への通知機能、感染歴・検査歴の更新などの機能強化をデザインし、理化学研究所のPIDJ運用チームとともにそれらの改修を実現した。2013年2月からの実際の運用を計画している。更に、遺伝子解析を担っているかずきDNA研究所側の遺伝子解析結果データベースで、PIDJでのID番号とリンクした形で遺伝子検査結果テーブルを生成するシステムの実際の運用を開始し、更に担当施設がその結果を閲覧して確定診断に至ったかどうかの判定結果を付与するシステムについても稼働を開始した。これらの情報のPIDJとの連結についてもほぼ準備が完了しており、PIDJ運営委員会での指示に従い、今後データのアップロードを行う予定である。

本研究班の共同研究者からの依頼に基づいて既知遺伝子の変異解析を継続的に行い、本研究班が取り扱う対象血液疾患の臨床像と原因遺伝子変異との間の関係性についての知見を集積した。これらもすべて共同研究者に報告すると共に、それらの症例情報はPIDJに登録し、今後の前向き研究に活用可能である。

D. 考察

1) PIDJの登録は、遺伝子検査と連結させることで症例登録を推進するシステムとなっている。そのため、一旦登録されている遺伝子検査が終わってしまうと、臨床情報のアップデートが滞ってしまう傾向が見られた。しかし、本研究班の活動によって、これまでの症例のアップデート作業を進める事ができた。その過程で、これまでのPIDJのデータベース構造のままではデータベース管理者の作業が避けられないことが明白となり、主治医からの登録作業後にどの専門施設がフォローしているかの情報が欠落しているなど、登録システムの改善点が浮き彫りとなった。本分担研究では、こうしたPIDJの問題点を解消するための作業を実施し、ほぼ当初の課題を達成した。

2) これまで、かずきDNA研究所で行われていた遺伝子解析の結果のとりまとめは、それぞれの専門施設の担当医に任されてきた。しかし、そのために逆に遺伝子解析結果を前向き研究に使う際に情報がデータベース上に残らないという欠点が見られた。今回の塩基配列結果の系統的な報告体制と専門施設による最終診断の有無のコメントを付与するシステムの確立により、遺伝子解析結果をPIDJの臨床情報を連結しながら網羅的に検討することが可能となった。

E. 結論

1) 理化学研究所のPIDJ運用チームと連携し、免疫不全症臨床アーカイブPIDJの改修を行った。これにより、前向き研

究にも PIDJ を活用することがより容易となった。

- 2) これまでかずさ DNA 研究所に蓄積してきた遺伝子解析結果を一定の同じフォーマットのファイルとして生成し、それらと PIDJ の臨床情報を連結する準備が完了した。更に、遺伝子変異情報を専門医によって最終診断結果としてもらうシステムを実稼働し、より前向き研究に有用な情報として活用できる体制を構築した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wada T, Muraoka M, Toma T, Imai T, Shigemura T, Agematsu K, Haraguchi K, Moriuchi H, Oh-Ishi T, Kitoh T, Ohara O, Morio T, Yachie A. Rapid Detection of Intracellular p47phox and p67phox by Flow Cytometry; Useful Screening Tests for Chronic Granulomatous Disease. *J Clin Immunol*. 2013 [Epub ahead of print]
- 2) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, 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*. 2012 [Epub ahead of print]
- 3) Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, Morio T, Imai K, Mitsuiki N, Ohara O, Komada Y. A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*. 2012 [Epub ahead of print]

- 4) Hori T, Ohnishi H, Teramoto T, Tsubouchi K, Naiki T, Hirose Y, Ohara O, Seishima M, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Autosomal-Dominant Chronic Mucocutaneous Candidiasis with STAT1-Mutation can be Complicated with Chronic Active Hepatitis and Hypothyroidism. *J Clin Immunol*. 2012 32(6):1213-20.

- 5) Takezaki S, Yamada M, Kato M, Park MJ, Maruyama K, Yamazaki Y, Chida N, Ohara O, Kobayashi I, Ariga T. Chronic mucocutaneous candidiasis caused by a gain-of-function mutation in the STAT1 DNA-binding domain. *J Immunol*. 2012 189(3):1521-6.

- 6) Suri D, Singh S, Rawat A, Gupta A, Kamae C, Honma K, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Mitsuiki N, Ohara O, Bilhou-Nabera C, Proust A, Ahluwalia J, Dogra S, Saikia B, Minz RW, Sehgal S. Clinical profile and genetic basis of Wiskott-Aldrich syndrome at Chandigarh, North India. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2012 30(1):71-8.

- 7) Mohammadzadeh I, Yeganeh M, Aghamohammadi A, Parvaneh N, Behniafard N, Abolhassani H, Tabassomi F, Hemmat M, Kanegane H, Miyawaki T, Ohara O, Rezaei N. Severe primary antibody deficiency due to a novel mutation of mu heavy chain. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2012 22(1):78-9.

- 8) Nakaoka H, Kanegane H, 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*. 2012 95(6):692-6.

2. 学会発表

- 1) 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. "Genetic

Analysis for 207 Cases with Primary Immunodeficiency (PID) Consulted to A Single Center through PID Network in Japan (PIDJ) in 5 Years (2007-2011)". N. Mitsui, K. Oshima, K. Imai, O. Ohara, T. Morio, S. Mizutani, Florence, Italy, October 3-6 2012.

- 2) 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. "Clinical features and immunological abnormalities of GATA2 deficiency in Japan." K. Honma, K. Imai, C. Kamae, H. Ishida, Y. Ito, S. Kojima, T. Yokosuka, H. Kanegane, T. Morio, Y. Sasahara, T. Fujiwara, H. Harigae, Y. Hashii, O. Ohara, S. Nonoyama Florence, Italy, October 3-6 2012.
- 3) 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. "GENETIC ANALYSIS OF AICARDI-GOUTIÈRES SYNDROME IN JAPAN" R. Nishikomori, J. Abe, K. Izawa, T. Kawai, T. Yasumi, N. Mitsui, O. Ohara, I. Toyoshima, K. Hasegawa, H. Ichinose, T. Heike. Florence, Italy, October 3-6 2012.
- 4) 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. "Chronic Mucocutaneous Candidiasis Caused by a Gain-of-Function Mutation in the STAT1 DNA-Binding Domain" Y. Yamazaki, M. Yamada, S. Takezaki, M. Kato, M.-J. Park, K. Maruyama, N. Chida, O. Ohara, I. Kobayashi, T. Ariga. Florence, Italy, October 3-6 2012.
- 5) 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. "Rapid detection of intracellular p47phox and p67phox by flow cytometry in patients with chronic granulomatous disease" T. Wada, M. Muraoka, T. Toma, T. Shigemura, K. Agematsu, H. Moriuchi, O. Ohara, T. Morio, A. Yachie. Florence, Italy, October 3-6 2012.
- 6) 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. "Induced

Pluripotent Stem Cells derived from patients with Reticular Dysgenesis" K. Oshima, A. Niwa, K. Imai, S. Nakamura, Y. Jindai, T. Tanaka, M. Yanagimachi, O. Ohara, H. Yabe, S. Kojima, T. Nakahata, S. Nonoyama, M.K. Saito. Florence, Italy, October 3-6 2012.

- 7) 第6回日本免疫不全症研究会「新規B因子昨日獲得型変異を有する非典型的溶血性尿毒症症候群の1家系」大西秀典、船戸道典、近藤直美、小原收、上村治 東京 2013年1月26日.
- 8) 第6回日本免疫不全症研究会「単一細胞免疫アッセイによるNLRP3体細胞モザイクの機能的解析の試み」白崎善隆、志村七子、山岸舞、井澤和司、中川権史、西小森隆太、平家俊男、小原收 東京 2013年1月26日.

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

移植前処置に用いるブスルファンの至適血中濃度の検討

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授

研究協力者 村松秀城 名古屋大学医学部附属病院小児科 助教

研究要旨

重症複合型免疫不全症などの重症の先天性免疫不全症では、いまだ造血幹細胞移植が唯一の根治療法である。ブスルファンは、移植前処置に用いる重要な薬剤の一つであるが、血中濃度の有効域と中毒域が近く、また患者ごとの体内薬物動態のばらつきが大きいことが知られている。ブスルファンの血中濃度測定を行える国内施設はごく限られており、我が国における実地臨床ではほとんど血中濃度測定に基づいた用量調節は行われていない。先天性免疫不全に対する安全な同種造血幹細胞移植法を開発するため、ブスルファン血中濃度測定系を確立し、他施設からの検体受入を計画している。

A. 研究目的

ブスルファンは、移植前処置に用いる重要な薬剤の一つであるが、血中濃度の有効域と中毒域が近く、患者ごとの体内薬物動態のばらつきが大きいことが知られており、欧米諸国では原則血中濃度測定に基づいた用量調節の上で使用されている。重症複合型免疫不全症などの重症の先天性免疫不全症では、いまだ造血幹細胞移植が唯一の治療法であるが、先天性免疫不全症に対する同種造血幹細胞移植においてもブスルファンは欠くことができない薬剤であり、より安全な移植法の開発にはブスルファン血中濃度測定系の確立は不可欠である。しかし、ブスルファンの血中濃度測定を行える国内施設はごく限られており、我が国における実地臨床ではほとんど血中濃度測定に基づいた用量調節は行われてこなかった。

B. 研究方法

免疫破壊的化学療法による前処置に引き続き、同種造血幹細胞移植を行う臨床計画を立案するとともに、前処置で用いる薬剤の一つであるブスルファンの HPLC 法による血中濃度測定系を確立する。

(倫理面への配慮)

ブスルファン血中濃度測定多施設共同臨床研究について、2013年3月に名古屋大学医学部倫理委員会の承認予定である。

C. 研究結果

1) ブスルファン血中濃度測定系の確立

ブスルファンの血中濃度が至適濃度以下では十分なドナーの免疫抑制が得られず移植片の拒絶のリスクが高まる。一方、過量投与となると、ブスルファン特有の肝中心静脈閉塞症、肺障害等の治療関連合

併症のリスクが高まる結果となる(図1)ため、個々の患者の試験投与後の血中濃度解析による C_{ss} (定常状態血中濃度)から至適投与量(800~900 $\mu\text{g/L}$)を算出して、投与量を調節する targeted dose adjustment が安全性の高い前処置を行うためには重要である。名古屋大学医学部附属病院薬剤部との共同研究を通じて、ブスルファン血中濃度測定系を確立した(図2)。

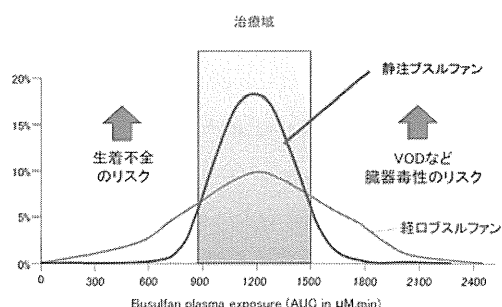


図1. ブスルファンの至適血中濃度

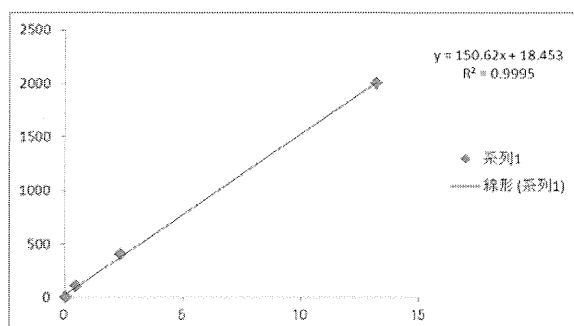


図2. 院内ブスルファン血中濃度検量線 (HPLC 法)

2) 血中濃度測定に基づくブスルファン用量調節した造血幹細胞移植

これまでに、当院で免疫不全2例を含む7例に対して、ブスルファン血中濃度測定に基づく用量調節を行った前処置で造血幹細胞移植を施行した。全例で生着が得られ、VOD、肺障害などブスルファン特有と

考えられる臓器障害の発症は認められず、移植の安全性を高めることに寄与したものと考えられる。今後、ブスルファン血中濃度測定多施設共同臨床研究を準備・開始することで、他施設も含めた本邦の免疫不全症に対する造血幹細胞移植の安全性向上への寄与、先進医療申請を目指す。

D. 考察

本研究で確立したブスルファン血中濃度測定系は、先天性免疫不全症に対する安全な同種造血幹細胞移植法の確立に、今後大きく寄与するものと考えられる。

E. 結論

先天性免疫不全に対する安全な同種造血幹細胞移植法を開発するため、ブスルファン血中濃度測定系を確立した。他施設からの検体受入を計画している。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C, Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S. Wiskott-Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking juvenile myelomonocytic leukaemia. *Pediatric blood & cancer* 2012.
- 2) Wang X, Muramatsu H, Sakaguchi H, Xu Y, Narita A, Tsumura Y, Doisaki S, Tanaka M, Ismael O, Shimada A, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Mutation in the THPO gene is not associated with aplastic anaemia in

- Japanese children. *British journal of haematology* 2012;158:553-555.
- 3) Shimada A, Takahashi Y, Muramatsu H, Hama A, Ismael O, Narita A, Sakaguchi H, Doisaki S, Nishio N, Tanaka M, Yoshida N, Matsumoto K, Kato K, Watanabe N, Kojima S. Excellent outcome of allogeneic bone marrow transplantation for Fanconi anemia using fludarabine-based reduced-intensity conditioning regimen. *International journal of hematology* 2012;95:675-679.
 - 4) 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* 2012;58:780-784.
 - 5) Sakaguchi H, Makishima H, Muramatsu H, Visconte V, Jerez A, Jankowska AM, Tiu RV, Maciejewski JP, Kojima S. Mutational analysis of RNA splicing machinery components in 206 children with myeloid malignancies. *Leukemia research* 2012.
 - 6) Saito Y, Aoki Y, Muramatsu H, Makishima H, Maciejewski JP, Imaizumi M, Rikiishi T, Sasahara Y, Kure S, Niihori T, Tsuchiya S, Kojima S, Matsubara Y. Casitas B-cell lymphoma mutation in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia research* 2012;36:1009-1015.
 - 7) 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* 2012;47:600-602.
 - 8) Muramatsu H, Makishima H, Maciejewski JP. Chronic myelomonocytic leukemia and atypical chronic myeloid leukemia: novel pathogenetic lesions. *Seminars in oncology* 2012;39:67-7.
 - 9) Makishima H, Sugimoto Y, Szpurka H, Clemente MJ, Ng KP, Muramatsu H, O'Keefe C, Sauntharajah Y, Maciejewski JP. CBL mutation-related patterns of phosphorylation and sensitivity to tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia* 2012;26:1547-1554.
 - 10) Kato K, Otake H, Tagaya M, Takahashi Y, Ito Y, Hama A, Muramatsu H, Kojima S, Naganawa S, Nakashima T. Progressive hearing loss following acquired cytomegalovirus infection in an immunocompromised child. *American journal of otolaryngology* 2012.
 - 11) Jerez A, Sugimoto Y, Makishima H, Verma A, Jankowska AM, Przychodzen B, Visconte V, Tiu RV, O'Keefe CL, Mohamedali AM, Kulasekararaj AG, Pellagatti A, McGraw K, Muramatsu H, Moliterno AR, Sekeres MA, McDevitt MA, Kojima S, List A, Boultonwood J, Mufti GJ, Maciejewski JP. Loss of heterozygosity in 7q myeloid disorders: clinical associations and genomic pathogenesis. *Blood* 2012;119:6109-6117.
 - 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* 2012;59:530-535.
 - 13) Ismael O, Shimada A, Hama A,

- Elshazley M, Muramatsu H, Goto A, Sakaguchi H, Tanaka M, Takahashi Y, Yinyan X, Fukuda M, Miyajima Y, Yamashita Y, Horibe K, Hanada R, Ito M, Kojima S. De novo childhood myelodysplastic/myeloproliferative disease with unique molecular characteristics. *British journal of haematology* 2012;158:129-137.
- 14) 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* 2012;156:316-325.
- 15) Fukushima H, Fukushima T, Hiraki A, Suzuki R, Mahmoud SS, Yoshimi A, Nakao T, Kato K, Kobayashi C, Koike K, Fukasawa M, Morishita Y, Doisaki S, Muramatsu H, Sumazaki R. Central nervous system lesions due to juvenile myelomonocytic leukemia progressed in a boy undergoing first line chemotherapy. *International journal of hematology* 2012;95:581-584.
- 16) Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Mori-Ezaki M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Sotomatsu M, Hayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Narita A, Wang X, Ismael O, Xu Y, Nishio N, Tanaka M, Hama A, Koike K, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic NRAS mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 2012;120:1485-1488.
- 17) Abu Kar S, Jankowska AM, Makishima H, Visconte V, Jerez A, Sugimoto Y, Muramatsu H, Traina F, Afable M, Guinta K, Tiu RV, Przychodzen B, Sakaguchi H, Kojima S, Sekeres MA, List AF, McDevitt MA, Maciejewski JP. Spliceosomal gene mutations are frequent events in the diverse mutational spectrum of chronic myelomonocytic leukemia but largely absent in juvenile myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2012.
2. 学会発表
なし
- 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

重症複合免疫不全症に対する造血幹細胞移植

研究分担者 原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 教授

研究要旨

平成24年度は国内で3例の重症複合免疫不全症に対して造血幹細胞移植が行われた。2例は共通・鎖欠損症で、他の1例はADA欠損症であった。共通・鎖欠損症の2例についてはFLU+BUで、ADA欠損症の1例については、FLU+BU+ATGによって前処置がなされた。いずれの症例もRRT、GVHD、感染症などの重篤な合併症はなく、経過は良好である。当科において染色体異常に伴って発症した複合免疫不全症の患者1名に対して、この疾患の病態を解析し、HLAマッチの姉をドナーとして骨髄移植を行った。移植前処置はFLU+CY+ATGで、移植後の経過は良好である。

A. 研究目的

重症複合免疫不全症は、乳児期に感染症でほとんどの患者が死亡する重症の原発性免疫不全症候群であり、造血幹細胞移植や遺伝子治療による免疫学的再構築を緊急に行う必要がある。しかし、患者が診断された時点で既に重症感染症を起こしている場合も多く、また最適な移植方法が確立されていない。我々は、これまでの重症複合免疫不全症候群(X-SCID)の治療経験から、現時点で移植成績の良い方法についてPIDJホームページに掲載し、多くの症例でその成績を確認したいと考えており、より良い方法があれば、修正したい。

重症複合免疫不全症の原因は、共通・鎖欠損の頻度が高いが、原因によっては放射線感受性を呈する場合もあり、その病態によって移植前処置を決定する必要がある。

今回、染色体異常に関連した複合免疫不全症の患者の病態を解析し、HLA一致の姉から骨髄移植を行ったので報告する。

B. 研究方法

末梢血、骨髄細胞のアポトーシスの解析は、フローサイトメーターを用いて、Annexin V、PIの二重染色によって判定した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析に関しては、九州大学ヒトゲノム遺伝子解析研究倫理委審査委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

当科において染色体異常に伴って発症した複合免疫不全症の患者を同定した。患者の臨床像、経過は以下の通りである。

患者:4か月男児

病歴:X月6日頃から咳嗽が出現した。同月14日から発熱・哺乳不良がみられ、胸部

レントゲン検査で肺炎を指摘され、前医に紹介入院した。ABPC 投与を行われたが改善に乏しく、リンパ球数 400~500/mL、IgG 140 mg/dL、IgA < 3 mg/dL、IgM 390 mg/dL とリンパ球減少と低ガンマグロブリン血症を認めたことから、原発性免疫不全症を疑って同月 27 日に当科へ紹介入院した。なお、小顎症、口蓋裂に対して小児歯科でフォロー中であった。

入院時現症: SpO₂ 92%。小顎、口蓋裂、耳介低位、耳朶の折れ込みを認めた。

検査所見:

WBC 2030/ μ L、Ly 420/ μ L、Hb 10.0 g/dL、Plt 8.4x10⁴/ μ L、CRP 0.14mg/dL、KL-6 785U/mL、 β -D グルカン

82.83pg/mL、喀痰 P. Jiroveci PCR 陽性
骨髄細胞数 78,900/ μ L

胸部 CT にて両肺にすりガラス陰影、胸腺の低形成

免疫学的検査:

IgG 140mg/dL、IgA 3mg/dL、IgM 390mg/dL

CD3⁺ 58% (243/mL)、CD19⁺ 13% (543/mL)

TREC 検出感度以下

異性間 FISH XY 500 細胞、XX 0 細胞

PHA 283 S.I. (正常値: 254-388)

cjKREC 1.8x10³ copies/mgDNA

sjKREC 2.1x10³ copies/mgDNA

抗 A 抗体価: 8 倍 (血液型 B 型)

NK 活性 12.3% Lysis

ADA 活性 正常

共通鎖正常発現、遺伝子異常なし

IL7R、*JAK3* 遺伝子異常なし

染色体検査末梢血 (PHA 添加)

47,XY,+22[3] 46,XY[17]

染色体検査骨髄 (PHA 無添加)

45,XY,-21[3] 47,XY,+22[14] 46,XY[3]

以上より、染色体異常に関連した複合免疫不全症と診断した。

この染色体異常は、PHA 添加によって割合が減少することが判った (図 1, 2)。

図 1. 22 trisomy 細胞の条件の違いによる比率の変化

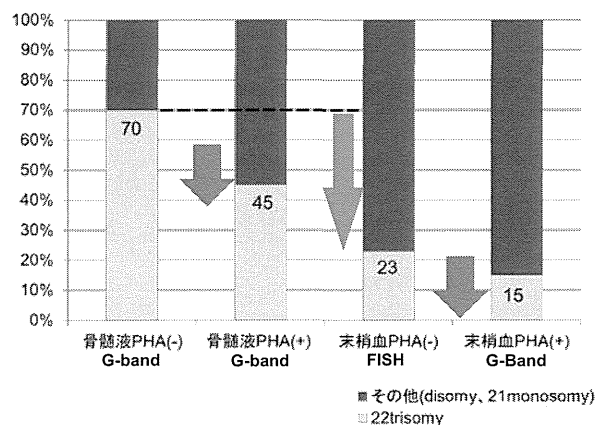
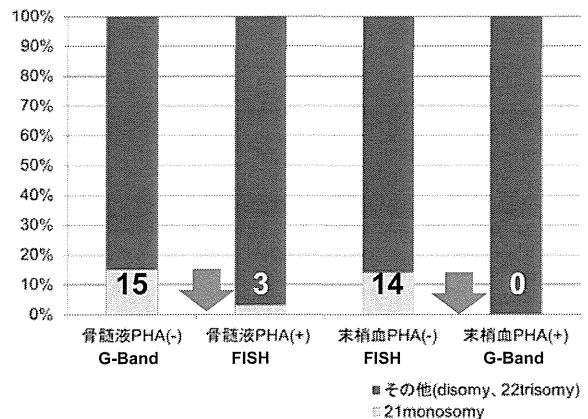
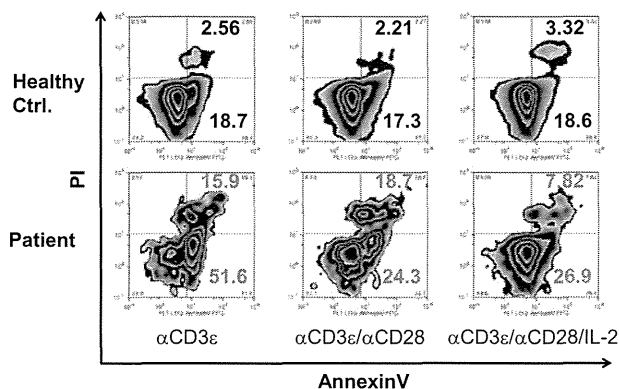


図 2. 21 monodomy 細胞の条件の違いによる比率の変化



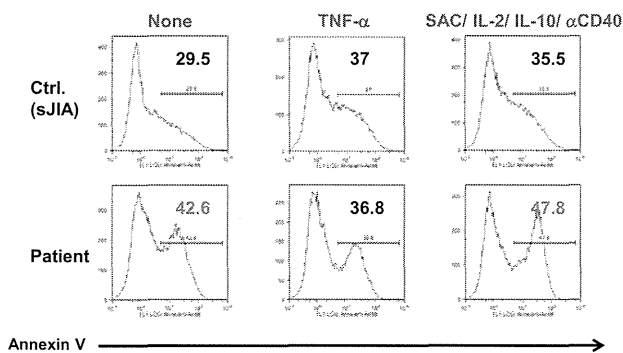
この結果より、染色体異常によって細胞死が誘導されやすいことが複合免疫不全症の原因である可能性を考え、末梢血 T 細胞を解析したところ、無刺激、抗 CD3 抗体刺激、抗 CD3+CD28 抗体刺激のいずれによっても、患者リンパ球は細胞死が誘導されやすいことが判明した (図 3)。

図 3. CD4⁺ T 細胞の細胞死解析



同様に骨髄由来 B 細胞は、無刺激、SAC+IL-2+IL-10+抗CD40抗体刺激(図4)、Staurosporine 刺激(図5)などによって、細胞死が誘導されやすいことが判明し、患者単球も同様であった(図6)。

図 4. 骨髄由来 CD19⁺B 細胞の細胞死解析



以上より、患者末梢血細胞は、細胞死が誘導されやすく、複合免疫不全症を呈する原因である可能性が示唆された。

この患者に対して、HLA 一致の姉から骨髄移植を行い、FLU+CY+ATG の RIST による前処置で、RRT なく造血幹細胞移植を行うことができた(図7)。

図 5. 骨髄由来 CD19⁺細胞の細胞死解析

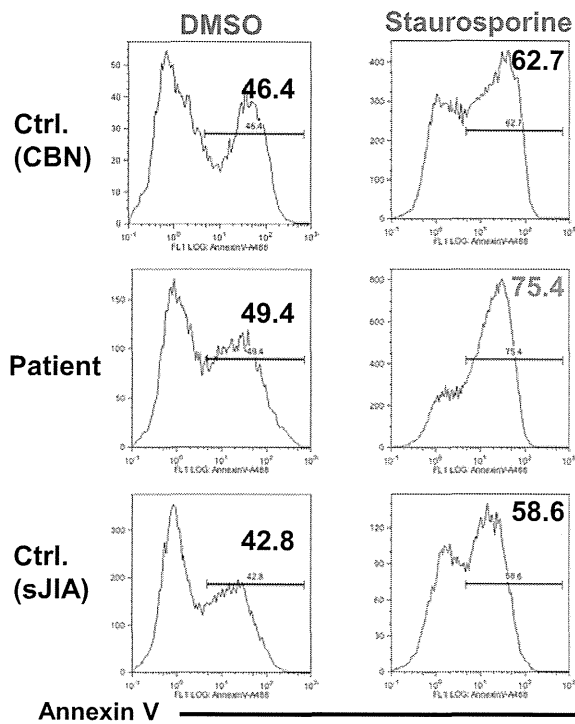


図 6. 骨髄由来 CD14⁺細胞の細胞死解析

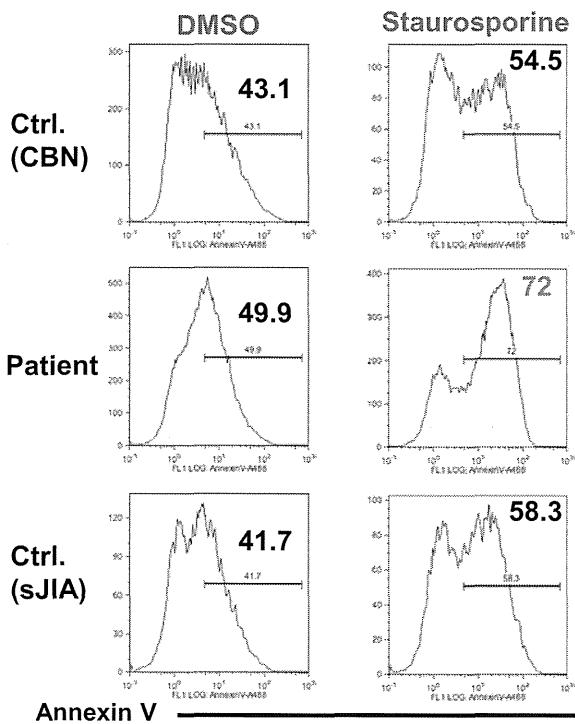
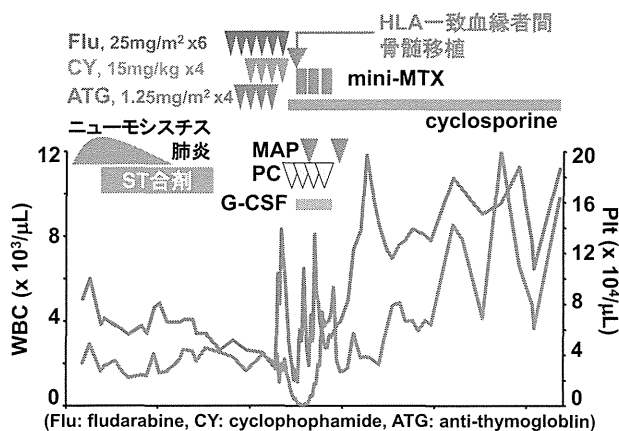


図 7. 造血幹細胞移植の経過



D. 考察

これまで報告されている生殖細胞変異による 22 trisomy/ 21 monosomy の特徴を表 1 に示す。

	22 trisomy ¹⁾	21 monosomy ²⁾
Non-mosaic	致死	致死
精神発達遅滞	(+)	(+)
小顎症	(+)	(+)
口蓋裂	(+)	(+)
耳介低位	(+)	(+)
小頭症	(+)	(+)
心奇形	(+)	(+)
腎奇形	(+)	(+)
肋骨奇形	(+)	(-)
鎖肛	(-)	(+)

患者は、小顎症、口蓋裂、耳介低位など、類似する症状が認められたが、患者の口腔粘膜の解析では染色体異常は認められなかった。

Pier-Angelo らは免疫不全症を合併した部分 22 trisomy を報告しており、患者の症状はこれに類似している。染色体異常を背景に、複合免疫不全がおこることが今回確認されたものとする。

E. 結論

白血球・血小板減少と多発奇形を合併した複合免疫不全症の症例を経験した。血液細胞において、体細胞変異による 22 trisomy と 21 monosomy の mosaic を認め、本異常に起因したアポトーシス高感受性が免疫不全症・血球減少の原因と考えられた。骨髄非破壊的前処置による HLA 一致血縁者間骨髄移植を行い、良好な経過を得ている。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nozaki T, Takada H, Ishimura M, Ihara K, Imai K, Morio T, Kobayashi M, Nonoyama S, Hara T. Endocrine complications in primary immunodeficiency diseases in Japan. *Clin Endocrinol. (Oxf)* 77: 628-634, 2012.
- 2) Obinata K, Lee T, Niizuma T, Kinoshita K, Shimizu T, Hoshina T, Sasaki Y, Hara T. Two cases of partial dominant interferon- γ receptor 1 deficiency that presented with different clinical courses of bacille Calmette-Guérin multiple osteomyelitis. *J Infect Chemother.* (in press)
- 3) Kusuhara K, Hoshina T, Saito M, Ishimura M, Inoue H, Horiuchi T, Sato T, Hara T. Successful treatment of a patient with tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome using a half-dose of etanercept. *Pediatr Int.* 54: 552-555, 2012.
- 4) Hoshina T, Kusuhara K, Saito M, Mizuno Y, Hara T. NKRP1A+ $\gamma\delta$ and $\alpha\beta$ T cells are preferentially induced in

- patients with Salmonella infection. Hum Immunol. 73: 623-628, 2012.
- 5) Yamamura K, Ihara K, Ikeda K, Nagata H, Mizuno Y, Hara T. Histo-blood group gene polymorphisms as potential genetic modifiers of the development of coronary artery lesions in patients with Kawasaki disease. Int J Immunogenet. 39(2): 119-125, 2012.
- 6) Onoyama S, Ihara K, Yamaguchi Y, Ikeda K, Yamaguchi K, Yamamura K, Hoshina T, Mizuno Y, Hara T. Genetic susceptibility to Kawasaki disease: analysis of pattern recognition receptor genes. Hum Immunol. 73: 654-660, 2012.
- 7) Yamamura K, Joo K, Ohga S, Nagata H, Ikeda K, Muneuchi J, Watanabe M, Hara T. Thrombocytosis in asplenia syndrome with congenital heart disease: a previously unrecognized risk factor for thromboembolism. Int J Cardiol. 2012 (in press)
- 8) Shiraishi A, Ohga S, Doi T, Ishimura M, Takimoto T, Takada H, Miyamoto T, Abe Y, Hara T. Treatment choice of immunotherapy or further chemotherapy for Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. Pediatr Blood Cancer. 59: 265-270, 2012.
- 9) Imagawa T, Takei S, Umebayashi H, Yamaguchi K, Itoh Y, Kawai T, Iwata N, Murata T, Okafuji I, Miyoshi M, Onoe Y, Kawano Y, Kinjo N, Mori M, Mozaffarian N, Kupper H, Santra S, Patel G, Kawai S, Yokota S. Efficacy, pharmacokinetics, and safety of adalimumab in pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis in Japan. Clin Rheumatol. 31: 1713-1721, 2012.
- 10) Yokota S, Nishikomori R, Takada H, Kikuchi M, Nozawa T, Kanetaka T, Kizawa T, Miyamae T, Mori M, Heike T, Hara T, Imagawa T. Guidance on the use of canakinumab in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome in Japan. Mod Rheumatol. (in press)
- 11) Kitajima J, Inoue H, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Yoshida T, Kusuhara K, Hara T. Differential transmission and postnatal outcome in triplets with congenital cytomegalovirus infection. Pediatr Development Pathol. 15: 151-155, 2012.
- 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

重症先天性好中球減少症の造血幹細胞移植

研究分担者 小林 正夫

広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学 教授

研究協力者 溝口 洋子、唐川 修平

広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学

研究要旨

先天性好中球減少症 (severe congenital neutropenia, SCN) は、慢性好中球減少症のため生後より重症細菌感染症を反復する疾患である。全国より情報を収集した 46 人の SCN 症例について造血幹細胞移植を中心とした治療に関する解析を行った。G-CSF 製剤の定期投与を行っている例は全体の 56% であり、感染時のみ使用している例が 22% であった。治療抵抗性感染症の合併例もしくは G-CSF 製剤の長期投与を受けた 12 例(26%)において、MDS (myelodysplastic syndrome)/AML (acute myeloid leukemia) 移行前に造血幹細胞移植が行われており、全例生存している。4 人が経過中 MDS/AML に移行し、全例造血幹細胞移植が行われ、3 名は無病生存中である。移植前処置は症例によって異なるが、近年は骨髄非破壊的前処置が増加している。一部の症例に拒絶が認められていることから、適切な前処置を含めた移植ガイドラインが必要である。

A. 研究目的

先天性好中球減少症 (severe congenital neutropenia, SCN) は、乳児期からの慢性好中球減少症(特に末梢血好中球数が 200 /mL 未満)と、骨髄における顆粒球系の成熟障害、生後より反復する重症細菌感染症を臨床的特徴とする疾患である。本疾患の治療としては感染症対策として G-CSF 製剤投与が行われ、有効であるものの、長期投与による MDS (myelodysplastic syndrome)/AML (acute myeloid leukemia) への進展が危惧される。根治療法としては造血幹細胞移植であるが、確立された移植前処置はない。本研究では、本邦例の症例

集積から治療の実態を解析、検討することを目的とする。

B. 研究方法

全国各施設に SCN 症例の有無を問う質問紙を送付し、SCN 患者の集積、総数把握を行った。さらに回答のあった施設には、より詳細な質問紙を送付し、臨床経過及び遺伝子検査、治療について調査を行った。その結果 30 施設より集積された 46 人の SCN 症例について解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は広島大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会ならびに臨床研究倫理審査委員会での承認を得た。

C. 研究結果

1) 診断時年齢、性差

診断時年齢は平均 4.6 ヶ月であり、生直後から 24 ヶ月にわたっていた。90%の患者が1歳前に診断されており、約75%の患者は生後6ヶ月以前に診断されていた。24ヶ月をこえて診断された症例はなかった。男女比は1:1であり、性差は認めなかった。

2) G-CSF 製剤投与

46例中36例(78%)の患者がG-CSF製剤の投与を受けていた。定期的に投与を受けている例が26例(56%)であり、10例(22%)は感染時のみ投与を受けていた。G-CSF投与で好中球増加が認められなかった症例が2例あった。G-CSF製剤の定期投与を行っている群の平均投与期間は約6.6年であった。

3) 造血幹細胞移植

46例中12例(26%)が悪性転化前に造血幹細胞移植を受けていた。移植時の平均年齢は5歳であった。移植ソースは3例が血縁骨髄、6例が非血縁骨髄、4例が非血縁臍帯血であった。移植前処置は骨髄非破壊的前処置が11例で選択されていた。生着不全が2例に認められた。移植後合併症として1例に混合キメラ、1例に慢性GVHDを認めたが、全例生存中であった。

4例が経過中MDS(myelodysplastic syndrome)/AML(acute myeloid leukemia)に移行し、全例造血幹細胞移植が行われた。

1名のみ移植後のGraft versus host diseaseにより死亡したが、3名は無病生存中である。

D. 考察

SCNの治療に関して、G-CSF製剤の定期投与を受けている患者は本邦で78%、欧米での約90%に比し、低い傾向にあった。これは主治医のG-CSF製剤使用に対する副作用と感染症予防の効果に対する有効度を比較した結果であることが推測された。また、感染症頻度の高い重症例においては移植を選択されていることが多いことに起因していると思われた。悪性転化前に造血幹細胞移植を受けている例は26%であり、欧米(3%台)に比し、かなり高い傾向にあった。これは本邦におけるHLA一致度の高さや、骨髄非破壊的移植の導入による結果と考えられる。また悪性転化症例は本研究では15年経過で46例中4例(8.6%)であり、欧米(10年での累積発症率が21%)の報告に比し低い傾向にあった。本研究はコホート調査であり、prospectiveな調査とは単純に比較することはできないが、G-CSF製剤の定期投与の割合の低さや、悪性転化前の早期の移植が、欧米と比較し低いMDS/AML発症率につながっている可能性がある。

E. 結論

今後さらなる症例を蓄積し、移植適応症例の選別や移植前処置の確立が望まれる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Mochizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H, Kobayashi M, Tsuji K: Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia-derived pluripotent stem cells with heterozygous ELANE mutation. Proc Natl Acad Sci USA 2013 (in press)
- 2) 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: Frequent somatic mosaicism of NEMO in T cells of patients with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency.. Blood. 2012;119(23):5458-66.
- 3) Kobayashi Y, Matsui H, Kanai A, Tsumura M, Okada S, Miki M, Nakamura K, Kunishima S, Inaba T, Kobayashi M: Identification of the integrin $\beta 3$ L718P mutation in a pedigree with autosomal dominant thrombocytopenia with anisocytosis. Br J Haematol. 2012, DOI Dec 17.
- 4) 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-Muhsen S, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Alzahrani M, Shehri MA, Elghazali G, Takihara Y, Kobayashi M: Dominant-negative STAT1 SH2 domain mutations in unrelated patients with Mendelian susceptibility to mycobacterial disease.. Human Mutation 2012;33(9):1377-87.
- 5) Zhang X, Inukai T, Hirose K, Akahane K, Kuroda I, Honna-Oshiro H, Kagami K, Goi K, Nakamura K, Kobayashi M, Endo M, Yagita H, Kurosawa H, Thomas Look A, Honda H, Inaba T, Nakazawa S, Sugita K: Oncogenic fusion E2A-HLF sensitizes t(17;19)-positive acute lymphoblastic leukemia to TRAIL-mediated apoptosis by upregulating the expression of death receptors. Leukemia. 2012;26(12):2483-93.
- 6) Ohno N, Kobayashi M, Hayakawa S, Utsunomiya A, Karakawa S: Transient pseudothrombocytopenia in a neonate: Transmission of a maternal EDTA-dependent anticoagulant. Platelets. 2012;23(5):399-400.
- 7) Regulation of hematopoietic stem cells using protein transduction domain-fused Polycomb. Kajiume T, Sera Y, Kawahara Y, Matsumoto M, Fukazawa T, Imura T, Yuge L, Kobayashi M. Exp Hematol. 2012;40(9):751-760.
- 8) 溝口 洋子, 鎌田 綾, 三木 瑞香, 谷 博雄, 世羅 康彦, 中村 和洋, 小林 正夫 : Glanzmann thrombastheniaへの遺伝子組み換え活性型第VII因子製剤による止血効果, 日本小児血液・がん学会雑誌. 49(1-2)9: 61-66. 2012.
- 9) 梶梅 輝之, 浅野 孝基, 世羅 康彦, 小林 正夫 : 輸血後蕁麻疹発症前の末梢血一般検査所見. アレルギー. 61(8): 1086-1091. 2012.
- 10) 溝口洋子, 津村弥来, 岡田賢, 小林正夫. 慢性性皮膚粘膜カンジダ症と機能獲得性STAT1変異. 臨床免疫・アレルギー科. 57(4): 437-443. 2012.

2. 学会発表

- 1) Osamu Hirata, Miyuki Tsumura, Yoko Mizoguchi, Satoshi Okada, Shizuko Minegishi, Tomohiro Morio,

Masao Kobayashi: Gain-of-function mutations of STAT1 in Japanese patients with CMCD. The 15th European Society for Immunodeficiencies Meeting. Florence, Italy, 2012.10.

2) Yoshiyuki Kobayashi, Hirotaka Matsui, Akinori Kanai, Miyuki Tsumura, Satoshi Okada, Mizuka Miki, Kazuhiro Nakamura, Shinji Kunishima, Toshiya Inaba and Masao Kobayashi: Identification of integrin b3 L718P mutation in a pedigree with autosomal dominant macrothrombocytopenia. The 54th Annual meeting of American Society of Hematology, Atlanta 2012.12.

3) Rie Onodera, Kazuhiro Nakamura, Kikuyo Taniguchi, Emi Kurita, Asako Hiraoka, Kaduta Yasui, Nobuki Matsuyama, Fumiya Hirayama, and Masao Kobayashi: A novel method using extracted human neutrophil antigens from HNA gene-transfected cell lines for detection of antibodies against human neutrophil antigens. The 54th Annual meeting of American Society of Hematology, Atlanta 2012.12.

4) 溝口 洋子, 津村 弥来, 平田 修, 峯岸 志津子, 森尾 友宏, 岡田 賢, 小林 正夫:機能獲得性STAT1変異を有する慢性皮膚粘膜カンジダ症の解析. 第54回日本小児血液学会 2012年11月30日-12月2日.

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

WAS に対する造血幹細胞移植法の確立に関する研究

研究分担者	有賀 正	北海道大学小児科学分野	教授
研究協力者	井口晶裕	北海道大学病院	助教
研究協力者	山田雅文	北海道大学病院	講師

研究要旨

Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症の日本で実施された移植状況の全例調査・把握を行うことで今後のより適切な移植治療を確立することを目的とし、両疾患に対する日本の全造血細胞移植について、日本造血細胞移植学会の TRUMP データを取得した。今後不足のデータの二次調査を行った後に移植データの解析を行う。追加調査項目は、キメリズム、血小板数、自己免疫疾患と慢性 GVHD の有無、現段階でのガンマグロブリン補充の有無、および移植前と移植後の IgE 値などを予定し、二次調査案を策定した。

A. 研究目的

日本造血細胞移植学会の遺伝性疾患 working group による研究と協力して、Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症における日本で実施された移植状況の全例調査・把握を行い、今後のより適切な移植治療を確立することを目的とする。

B. 研究方法

(1)研究の種類・デザイン

後向き観察研究

(2)研究・調査項目

対象患者について、以下の項目の調査を行う。

- ① 患者情報(年齢、性別、診断、治療内容、検査結果、画像診断結果、遺伝子解析結果、感染症、HLA)

② 移植前処置

③ 移植片対宿主病(GVHD)予防法

④ 移植ソースとその HLA

⑤ キメリズム

⑥ 移植合併症

⑦ 晩期障害と予後

(3)対象患者

2012年6月までの間に日本で造血幹細胞移植を受けた Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症の全患者

(4)選択基準

①日本人患者

②日本人ドナーから造血幹細胞移植を行った患者

③日本の施設で造血幹細胞移植を行った患者

(5) 除外基準

- ① 外国人患者
- ② 外国人ドナーから造血幹細胞移植を行った患者
- ③ 海外の施設で造血幹細胞移植を行った患者
- ④ その他、研究責任者が被験者として不適当と判断した患者

(6) 予定症例数(見込み症例数)

およそ 100 例

(倫理面への配慮)

「Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症に対する造血細胞移植に関する研究」について、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の承認が得られる予定。東京医科歯科大学の IRB 承認が条件であり、その承認を待っている状態(条件付の承認は H24 年 10 月 10 日)。

C. 研究結果

(1) Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症に対する日本の全造血細胞移植について、日本造血細胞移植学会の TRUMP データ取得申請しデータを取得した。今後不足のデータを二次調査のうえ取得し移植データの解析を行う予定である。

(2) 上記(1)の目的を達成するため、キメリズム、血小板数、自己免疫疾患と慢性 GVHD の有無、現段階でのガンマグロブリン補充の有無、および移植前と移植後の IgE 値などについて各移植施設に

二次調査を行う予定で二次調査案を策定した。

D. 考察

Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症は、難治性湿疹、血小板減少、および免疫不全を主症状とする難治性疾患である。現在は造血幹細胞移植が唯一の根治的治療法であるが、移植後に混合キメラ状態となることが自己免疫疾患のハイリスクと考えられており、これまで多くの症例で、アルキル化剤による大量化学療法や全身放射線照射などの骨髄破壊的前処置による移植が行われてきた。しかし骨髄破壊的前処置は成長障害、性腺機能障害、および二次ガンなどの晩期障害が問題となっており、悪性疾患でない本疾患においては、治療関連毒性をより軽減した安全で有効な移植前処置および移植ソースを確立することが重要な課題と考えられる。

海外と日本の移植を比較しても、HLA (Human Leukocyte Antigen; ヒト白血球抗原) の一致度や移植ソースなどと移植片対宿主病(GVHD)の発症頻度など合併症の発症については必ずしも同一の結果が得られていない。このため日本でのこれまでの本疾患に対する移植の全例把握を行い、今後のより適切な移植治療の確立を目指すことは極めて意義深く、本疾患における造血幹細胞移植の成績向上に寄与するものと考えられる。

E. 結論

本研究で、Wiskott-Aldrich 症候群および X 連鎖血小板減少症に対する造血細胞移植において、完全キメラが得られ、しかも

晩期障害がより少ない移植方法の確立が期待される。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ichikawa M, Suzuki D, Inamoto J, Ohshima J, Cho Y, Saitoh S, Kaneda M, Iguchi A, Ariga T. Successful alternative treatment containing vindesine for acute lymphoblastic leukemia with Charcot-Marie-Tooth disease. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012 34:239-41.
- 2) Sarashina T, Yoshida M, Iguchi A, Okubo H, Toriumi N, Suzuki D, Sano H, Kobayashi R.. Risk factor analysis of bloodstream infection in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2013 35:76-80.
- 3) Sato T, Okumura F, Iguchi A, Ariga T, Hatakeyama S. TRIM32 promotes retinoic acid receptor α -mediated differentiation in human promyelogenous leukemic cell line HL60. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012, 417:594-600.
- 4) Takezaki S, Okura Y, Ichikawa M, Suzuki D, Ohshima J, Kaneda M, Cho Y, Yamada M, Kawamura N, Iguchi A, Kobayashi I, Ariga T. Development of germinoma during the treatment of systemic-onset juvenile idiopathic arthritis with infliximab. *Mod Rheumatol.* 2012, 22:621-4.
- 5) Okura Y, Nawate M, Takahashi Y, Kobayashi I, Yamada M, Ariga T. Rheumatoid factor-positive synovitis in a patient with C3 deficiency. *Scand J Rheumatol.* 2012,41:405-6.
- 6) Cho Y, Iizuka S, Hatae Y, Kobayashi K, Hattori Y, Yamashiro Y, Ariga T. A 25-year observation of a Japanese female patient with Hb Nottingham who has two children with the same disorder. *Hemoglobin.* 2012,36:446-55.
- 7) Shibata M, Sato T, Nukiwa R, Ariga T, Hatakeyama S. TRIM45 negatively regulates NF- κ B-mediated transcription and suppresses cell proliferation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012, 423:104-9.
- 8) Ohshima J, Haruta M, Fujiwara Y, Watanabe N, Arai Y, Ariga T, Okita H, Koshinaga T, Oue T, Hinotsu S, Nakadate H, Horie H, Fukuzawa M, Kaneko Y. Methylation of the RASSF1A promoter is predictive of poor outcome among patients with Wilms tumor. *Pediatr Blood Cancer.* 2012,59:499-505.
- 9) Nakaoka H, Kanegane H, Taneichi H, Miya K, Yang X, Nomura K, Takezaki S, Yamada M, Ohara O, Kamae C, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yachie A, Herschfield MS, Ariga T, Miyawaki T. Delayed onset adenosine deaminase deficiency associated with acute disseminated encephalomyelitis. *Int J Hematol.* 2012,95:692-6.
- 10) Koseki N, Teramoto S, Kaiho M, Gomi-Endo R, Yoshioka M, Takahashi Y, Nakayama T, Sawada H, Konno M, Ushijima H, Kikuta H, Ariga T, Ishiguro N. Detection of human bocaviruses 1 to 4 from nasopharyngeal swab samples collected from patients with respiratory tract infections. *J Clin Microbiol.* 2012, 50:2118-21.
- 11) Ariga T. Wiskott-Aldrich syndrome; an x-linked primary immunodeficiency disease with unique and characteristic features. *Allergol Int.* 2012, 61:183-9.