

る。圧痛や腫脹のある関節は投与前からなく関節炎の評価はできないが、HAQ-DI スコアによる身体機能評価では、投与前の 2.875 が 2.75 と軽度ではあるが改善している。

D. 考察

和歌山地方の健常者の解析で NNS 関連 *PSMB8* 変異を 1/98 アリルに認めたことは、予想されたこととはいえ、単純計算で 1 万人に 1 人発症することになり、驚きに値する。看護学院には今後も継続的に協力を依頼しており、解析対象数を増やして実態を明らかにしたい。

CANDLE 症候群関連変異として T74S の登録があったが、患者の臨床像やプロテアソーム酵素活性をはじめとする機能的意義は不明である。遺伝子型と表現型の関連を明らかにするためにも、論文発表が待たれる。

本研究でもっとも興味深いのは、NNS 患者における HLA-DR の発現異常の解析であろう。免疫プロテアソームは通常のプロテアソームに比べて MHC クラス I に提示されやすいペプチドを生成することでクラス I 提示を促進することが知られており、 $\beta 5i$ ノックアウトマウスや $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ トリプルノックアウトマウスでは MHC クラス I の発現が低下し、CD8 T 細胞の発生分化も影響を受けることが知られている。NNS においては免疫プロテアソーム複合体の形成が障害され $\beta 5i$ だけでなく $\beta 1i$, $\beta 2i$ の機能も低下することから、MHC クラス I の発現が影響を受けることが予想されたが、驚くべきことに、HLA-ABC の発現は問題ない代わりに、HLA-DR の発現に異常が認められた。

これまでの解析をまとめると、NNS 患者細胞においても HLA-DR はきちんと細胞表面に発現しているが、L243 という特定の抗体クローンでのみ認識されない、すなわち何らかの構造変化が存在すると考えられる。特に L243 は混合リンパ球反応 (MLR) を阻害できる抗体であることから、クラス II 提示による CD4 細胞の分化、発生に影響がある可能性がある。NNS においては成長に伴って抗核抗体などの自己抗体が見られる症例が多く、あるいはこの現象と関連があるのかもしれない。またこれまで知られていないが、何らかの免疫不全と関連がある可能性もある。

ではなぜ HLA-DR にこのような構造異常ができたのか？クラス II 提示におけるプロテアソームの関与は明らかでなく、その機能不全が直接的に関与するとは考えにくい。HLA-DR は小胞体で合成される際にシャペロンとしてのインバリアント鎖と結合するが、ファゴリソソームに移動して CLIP のみを抗原提示部に残してインバリアント鎖を切断し、HLA-DM の助けを借りて CLIP と外来抗原由来ペプチドを入れ替え、細胞表面に移動して T 細胞受容体に提示する。NNS 患者血球においては、分解されないユビキチン化蛋白質がファゴリソソームに蓄積していることが示されており、このために HLA-DR あるいは CLIP などの関連分子に何らかの修飾が起こっている可能性は否定できない。

一方、HLA-DR そのものに構造異常があるとするれば、その遺伝子そのものに変異がある可能性がある。*PSMB8* 遺伝子は *TAP* 遺伝子などともに MHC クラス II 領域にあることから、

NNS 患者特異的な *HLA-DR* 遺伝子のヒッチハイク変異が存在する可能性は否定できない。今後の更なる解析が必要である。

NNS の成人患者 1 名にアクテムラ®を 7 ヶ月投与し、明らかな副作用なく、わずかではあるが軽快している印象にあるのは、大きな収穫であった。より炎症が顕著な症例では著効も期待できると思われる。ただ、血小板低値、肺陰影、顔面上肢のやせ・拘縮と腹部の肥満はそのまま持続しており、さらに感染性肺炎を誘発するリスクを考えると、投与継続は慎重に検討すべきである。更に多くの症例に投与して病像や年齢による効果や副作用の違いを検討するとともに、今回経時的に採取した血清について、IL-6 シグナルをブロックすることでその他のサイトカイン、ケモカイン、アディポカインがどのように推移したか検討することで、各シグナルのヒエラルキーが明らかになることが期待される。

欧米では CANDLE 症候群の小児 3 例 (3.5-6 歳) に使用し (5-12mg/kg、2 週に 1 回) に使用され、うち 2 例で 6 ヶ月以上継続され、炎症抑制効果はあったものの脂肪萎縮には無効だったと報告されている。さらに昨年の米国リウマチ学会にて、*ex vivo* で有効とされた JAK 阻害薬が NNS 患者に投与され、有効であったと報告された。JAK 阻害薬については、本邦でも近く上梓される予定であり、これも倫理委員会に諮ったうえで臨床研究として患者に投与することを検討する。

E. 結論

本分担研究により、まずヘテロ変異を持つ

健常者の存在が確認され、今後も患者が出現しうることが実感できた。また 1 症例に無事にアクテムラ®を半年間投与し、他の患者にも投与の道が開けた。ただ *HLA-DR* の発現異常については、何故そうなるのかも、それにどのような意味があるのかも、まだ全く不明である。NNS の病態解明に向けて研究が一步進んでさらに先の闇の深さが見えてきた印象である。中條、西村以来本邦において多くの臨床家が観察、記載してきた疾患だけに、是非世界でイニシアチブを取って病態解明、治療法の開発を進め、少しでも早く患者さんのもとに有効な薬を届けたい。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 金澤伸雄：壊疽性膿皮症は自己炎症疾患か？宮地良樹編、WHAT'S NEW in 皮膚科学 2012-2013、メディカルレビュー社、pp.34-35, 2012
2. 金澤伸雄：中條—西村症候群。原寿郎編、小児の発熱 A to Z、診断と治療社、pp.226-228, 2012
3. 金澤伸雄：Blau症候群。最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 3「サルコイドーシス (改訂第2版)」、長井苑子編、最新医学社、pp.210-218, 2012
4. 金澤伸雄：中條—西村症候群。自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患、近藤

直実・平家俊男編、診断と治療社、pp.100-102, 2012

5. 金澤伸雄：Case 6 中條-西村症候群. 自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患、近藤直実・平家俊男編、診断と治療社、pp.210-213, 2012

6. 金澤伸雄：皮膚-紅斑など皮膚症状から診断へ. 小児内科、44: 85-89, 2012

7. 有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、吉浦孝一郎：プロテアソームの機能阻害型遺伝子変異が新規自己炎症疾患である中條-西村症候群を引き起こす. 細胞工学、31: 68-69, 2012

8. 井田弘明、有馬和彦、金澤伸雄、吉浦孝一郎：中條-西村症候群の原因遺伝子とプロテアソーム機能異常. リウマチ科、47: 654-660, 2012

9. 金澤伸雄：NOD2 関連疾患. 炎症と免疫、20: 517-522, 2012

10. 井田弘明、有馬和彦、金澤伸雄、吉浦孝一郎：プロテアソーム病. 炎症と免疫、20: 609-614, 2012

11. Kanazawa N: Rare hereditary autoinflammatory disorders: towards an understanding of critical in vivo inflammatory pathways, J Dermatol Sci 66: 183-189, 2012

12. Kanazawa N: Nakajo-Nishimura syndrome: an autoinflammatory disorder showing pernio-like rashes and progressive partial lipodystrophy, Allergol Int 61: 197-206, 2012

13. Tchernev G, Ananiev J, Cardoso JC, Wollina U, Verma SB, Patterson JW, Dourmishev LA, Tronnier M, Okamoto H, Mizuno K, Kanazawa N, Gulubova M, Manolova I, Salaro C: Sarcoidosis and molecular mimicry—important etiopathogenetic aspects: current state and future directions, Wien Klin Wochenschr 124: 227-238, 2012

14. Ikeda T, Kanazawa N, Furukawa F: Hydroxychloroquine administration for Japanese lupus erythematosus in Wakayama: A pilot study, J Dermatol 39:531-535, 2012

18. Kuwahara J, Li HJ, Kanazawa N, Furukawa F: Attempts to induce auricular hematoma in a mouse model of collagen-induced arthritis, Aesthet Dermatol 22: 118-123, 2012

2. 学会発表

国内学会

第 430 回日本皮膚科学会大阪地方会
2012.3.24, 大阪

李洪錦、金澤伸雄、木村文子、上中智香子、米井希、山本有紀、古川福実：トリクロロ酢酸ピーリング後の潰瘍形成と創傷治癒過程のける transient receptor potential vanilloid 1 の役割.

第 19 回分子皮膚科学フォーラム
2012.4.13-14, 青森

稲葉豊、金澤伸雄、古川福実、櫻根義久、
中野創、澤村大輔：Keratin 16 遺伝子の
N125Sヘテロ変異を認めた先天性爪甲肥厚症
の母子例。

第 56 回日本リウマチ学会総会・学術大会
2012.4.26-28, 東京

金澤伸雄、井田弘明：世界に分布する
PSMB8遺伝子変異によるプロテアソーム機
能不全症候群：脂肪萎縮を伴う新しい自己
炎症疾患。

有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、江口勝
美：自己炎症症候群 中條-西村症候群におけ
るプロテアソーム機能不全と炎症性ケモカ
インの解析。

第24回日本アレルギー学会春季臨床大会
2012.5.12-13, 大阪

稲葉豊、金澤伸雄、古川福実：オープンパ
ッチテストにて診断したアレルイソプロピ
ルアセチル尿素とイブプロフェンによる固
定薬疹の一例。

第 431 回日本皮膚科学会大阪地方会
2012.5.19, 和歌山

李洪錦、桑原次郎、金澤伸雄、古川福実：
自己免疫性耳血腫マウスモデル作成の試
み。

第 111 回日本皮膚科学会総会 2012.6.1-3, 京
都

金澤伸雄、李洪錦、中谷友美、木村文子、
米井希、上中智香子、山本有紀、古川福
実：外来異物に対する皮膚反応における
TRPV1の役割。（ポスター賞）

第37回和歌山県皮膚科医会学術講演会
2012.6.23, 和歌山

金澤伸雄：中條-西村症候群：新しい自己炎
症疾患であるプロテアソーム機能不全症の提
唱。（和歌山県皮膚科医会医学奨励賞受賞記
念講演）

第80回和歌山医学会総会 2012.7.8, 和歌山

国本佳代、金澤伸雄、古川福実：中條-西村
症候群：和歌山発・プロテアソーム機能不全
による新しい遺伝性自己炎症疾患。

第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会
総会学術大会 2012.7.13-15, 軽井沢

金澤伸雄、稲葉豊、上中智香子、古川福実：
レボフロキサシンとアガリクスに対して
DLST陽性を認めた多発性固定薬疹の1例。

古川福実、金澤伸雄、島津伸一郎、吉田晃、
山田和子、中川武正、榎本雅夫：和歌山県に
おける乳幼児のアレルギー疾患に関する調査
（第5報）プロバイオティクスのアトピー性皮
膚炎あるいは乳幼児への介入効果。

稲葉豊、金澤伸雄、奥平尚子、田中克典、土
井直孝、下松達哉、国本佳代、石黒真理子、

岡本勝行、三木田直哉、上中智香子、池田高治、山本有紀、古川福実：和歌山県立医科大学皮膚科における加水分解小麦含有石鹼使用による即時型小麦アレルギーを疑われ受診した症例のまとめ。

第105回近畿皮膚科集談会 2012.7.22, 京都
金澤伸雄、稲葉豊、古川福実、櫻根義久、中野創、澤村大輔：ケラチン16遺伝子のN125Sヘテロ変異を認めた先天性爪甲肥厚症の母子例。

第362回日本皮膚科学会福岡地方会 2012.9.17, 福岡
金澤伸雄、古川福実、井上千津子、田村志宣：難治性疣贅と類上皮細胞肉芽腫からなる多発性皮膚結節を伴った原発性免疫不全症の1例。

第40回日本臨床免疫学会総会 2012.9.27-29, 東京
井田弘明、有馬和彦、金澤伸雄、吉浦孝一郎：中條-西村症候群の分子機序。シンポジウム1「免疫疾患のBench-To-Bedside」

有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、吉浦孝一郎：中條-西村症候群、新規本邦特有の自己炎症症候群におけるサイトカイン産生機序の解析。

第63回日本皮膚科学会中部支部学術大会 2012.10.13-14, 大阪

金澤伸雄：日本で見出された自己炎症疾患：中條-西村症候群。シンポジウム1「自己炎症疾患研究の目指すもの」

石黒真理子、池田高治、金澤伸雄、古川福実、鬼頭由紀子、金林純子、橋爪秀夫、竹本朱美、武藤正彦：皮膚病変を有するループス関連疾患患者のQOLに対する検討—Skindex29とCLASIを用いて—。

第64回日本皮膚科学会西部支部学術大会 2012.10.27-28, 広島

李洪錦、桑原二郎、金澤伸雄、古川福実：自己免疫性耳血腫マウスモデル作成の試み。

国際学会

7th International Conference on Rare Diseases & Orphan Drugs (ICORD), 2012.2.4-6, Tokyo, Japan

Kanazawa N, Kunimoto K, Arima K, Ida H, Yoshiura K-I, Furukawa F: Nakajo-Nishimura syndrome, an autoinflammatory disorder with partial lipodystrophy, is caused by a mutation of the PSMB8 gene encoding an immunoproteasome subunit.

The Asia Pacific Meeting of Vasculitis and ANCA Workshop 2012 (AP-VAS), 2012.3.28-31, Tokyo, Japan

Kanazawa N, Arima K, Ida H, Yoshiura K-I, Furukawa F: Vasculopathy in Nakajo-Nishimura

syndrome, an autoinflammatory disease with proteasome disability.

The European League against Rheumatism (EULAR) 2012, 2012.6.6-9, Berlin, Germany

Arima K, Kanazawa N, Furukawa F, Ida H, Yoshiura K: Increased expression of inflammatory cytokines and chemokines in an autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome.

2nd Eastern Asia Dermatology Congress (EADC), 2012.6.13-15, Beijing, China

Kanazawa N, Kunimoto K, Arima K, Ida H, Yoshiura K-I, Furukawa F: Nakajo-Nishimura syndrome, an autoinflammatory disorder with partial lipodystrophy, is caused by a mutation of the PSMB8 gene encoding an immunoproteasome subunit.

Li HJ, Kaminaka C, Furukawa F, Kanazawa N: Roles of transient receptor potential vanilloid 1 on trichloroacetic acid peeling and hapten-induced contact dermatitis.

The 42nd Annual Meeting of European Society for Investigative Dermatological Research, 2012.9.19-22, Venice, Italy

Yoshimasu T, Kanazawa N, Li HJ, Mikita N, Furukawa F: Involvement of mast cells in the

development of lupus-like skin lesions on MRL-lpr/lpr mice.

The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, 2012.12.7-9, Naha, Japan

Kunimoto K, Furukawa F, Ida H, Kanazawa N: Modified HLA-DR expression on antigen-presenting cells harboring the PSMB8 mutation responsible for Nakajo-Nishimura syndrome.

Li HJ, Furukawa F, Kanazawa N: Analysis of T cells in hapten-induced contact dermatitis on TRPV1-deficient mice.

Yoshimasu T, Kuramoto T, Serikawa T, Toyozawa S, Kanazawa N, Yamamoto Y, Furukawa F: A disorder of pilosebaceous unit of Kyoto Rhino Rat (krh) and its possibility of a model for acne vulgaris

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

周期性発熱・アフタ性口内炎・咽頭炎・頸部リンパ節炎症候群に関する研究

研究分担者 上松 一永 信州大学医学研究科感染防御学准教授

家族性地中海熱は典型例と非典型例に分かれるが、非典型例の MEFV Exon3 variants の一部において周期性発熱・アフタ性口内炎・咽頭炎・頸部リンパ節炎症候群(PFAPA)症状を呈することが知られている。長野県内および県外関連病院における成人例を含む PFAPA 患者 100 例について、臨床像、検査所見、既存の治療効果について検討した。また、本症の約 40%に家族歴を有するため MEFV Exon3 variants などの遺伝的背景を解析した。さらに、サイトカインプロファイルと CD64 発現による好中球活性化の評価を行った。3 主徴に加え、咽頭痛や頭痛などの随伴症状を認め、患者家族の QOL は著しく阻害されていた。MEFV Exon3 変異は認めなかったが、発作時に IFN-gamma が上昇する傾向がみられた。好中球表面 CD64 分子は、他の自己炎症疾患や細菌感染症と比較して、発作時に著明にその分子数が上昇しており、本症の早期診断法として有用と考えられた。

A. 研究目的

周期性発熱・アフタ性口内炎・咽頭炎・頸部リンパ節炎症候群 (periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, cervical adenitis: PFAPA) は、口内炎、頸部リンパ節炎、扁桃炎・咽頭炎を伴う発熱発作を反復する原因不明の自己炎症疾患である。本症は診断が遅れると患者 QOL が著しく低下するためその早期診断が望まれている。また、非典型的な症例も多く、診断補助となるバイオマーカーの同定が期待されている。

家族性地中海熱は、地中海に多くみられる常染色体劣性遺伝疾患で、周期性発熱、随伴する漿膜炎や関節炎が特徴的である。家族性地中海熱の Tel-Hashomer 基準には、2 つのタイプが含まれている。1 つは 38° C 以上の熱が 12 時間から 3 日間持続、随伴症状として腹膜炎、片側の胸膜炎、心膜炎、下肢の単関節炎を伴う典型例である。対照的に、不完全型/非典型例は、38° C 以下

の発熱、6 時間～1 週間発熱が持続、腹膜炎のない腹痛、限局した腹部症状、関節炎が典型例にみられる以外の部位に認める、などの症状を呈する。典型例と不完全型/非典型例は MEFV 遺伝子部位も異なる。最近、不完全型の中に PFAPA 症状を呈する患者がいることが明らかになってきた。

Fc γ -受容体(Fc γ -R)は、IgG の Fc 部分結合し、オプソニン作用として働く。Fc γ -R は親和性が異なる 3 種類、すなわち、Fc γ -RI (CD64)、Fc γ -RII (CD32)、Fc γ -RIII (CD16) からなり、好中球、単球/マクロファージ、NK 細胞などに発現している。CD64 はモノマー IgG に結合し、高親和性レセプターと分類され、IFN- γ や G-CSF によって発現が高まる。最近、好中球の CD64 表現は、細菌性感染症の診断のパラメータとして注目されている。

PFAPA 患者における血清サイトカインプロファイル、MEFV 遺伝子解析、CD64 発現

を検討し、診断のためのバイオマーカーを見出すことを目的とした。

B. 研究方法

長野県ならびに神奈川県で PFAPA と診断した 100 例を対象とした。CD64 発現は発作時の EDTA 血 50 microliter に抗 CD64 抗体ならびに抗 CD45 抗体を添加し染色、好中球および単球に gate をかけて、CD64 発現を調べた。MFI の Geomean から好中球 1 個あたりの CD64 分子数を計算した。発熱発作時ならびに発作間歇期のサイトカインを ELISA あるいは CBA flex beads 法で測定した。

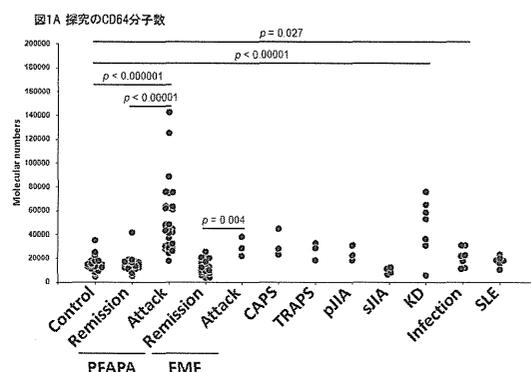
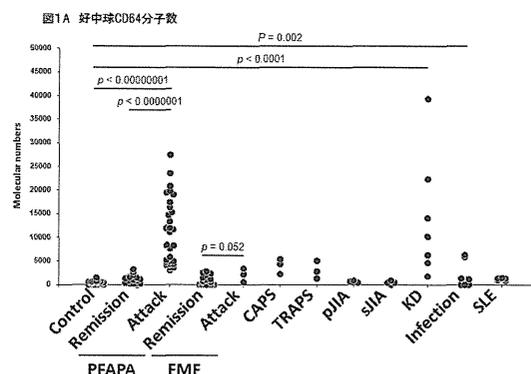
C. 研究結果

臨床像

発熱時の随伴症状として、口内炎、頸部リンパ節炎、扁桃炎・咽頭炎、頭痛、咽頭痛、嘔吐などを認め、アデノウイルス感染症に類似した扁桃の白苔は特徴的な所見と考えられた。発熱期間は1日から8日で平均4.2日だった。発熱間隔は1~2月に1回が多かったが、数か月間発作がみられない場合もあった。約40%に家族内発症を認め、多くは父方か母方のどちらか一方に発熱・扁桃炎の反復をする親族を認め、扁桃摘出が施行されている場合もあった。発症年齢は3~5歳に多いが成人発症も5例みられた。発熱時に前例でCRP、血清アミロイドAの高値を認めた。治療は、経過観察、シメチジンの予防内服(70%有効)、発作時の副腎皮質ステロイド薬投与(100%有効)、扁桃摘出(95%有効)を行った。

CD64 発現(図1A,B)

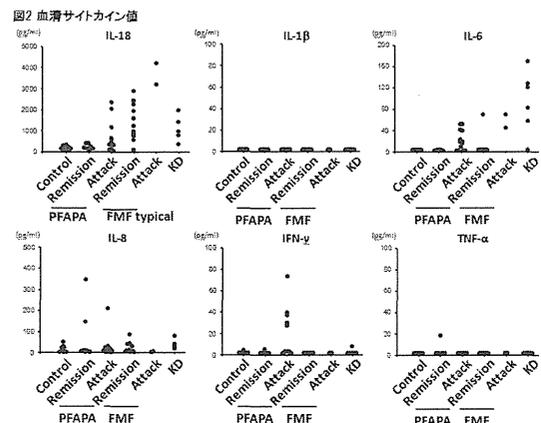
患者末梢血の好中球および単球表面における CD64 発現は、PFAPA においては非発作時の CD64 発現はコントロールと変わらないが、発作時には優位に上昇していた。FMF でも非発作時に比べ発作時では CD64 の発現がやや高まっていたが、PFAPA ではその変化が顕著であった。また、川崎病においては PFAPA の発作時と同程度に CD64 の発現が高まっていた。



血清サイトカイン値(図2)

発作間欠時と発熱発作時の血清 IL-18, IL-1beta, IL-6, IL-8, TNF-alpha, IFN-gamma 値を ELISA あるいは flex beads 法で測定した。特に発熱発作初期において、一部の患者で IFN-gamma の上昇を認めた。IL-18 は発作後遅れて上昇する傾向がみられたが、家族性地中海熱発作間欠期ほどの値では

なく軽度の上昇だった。



D. 考察

PFAPA は原因不明で原因遺伝子は同定されていないため診断が困難なことがある。CD64 は、重症細菌感染症や敗血症のバイオマーカーとして注目されているが、PFAPA の発熱時には細菌感染症に比べきわめて高値になる。Fcγ Rs の発現亢進は、IgG を介したオプソニン作用によって、細菌の食菌作用を促し、その結果、細菌性感染症の免疫応答に重要な役割を担っている。TNF-α と IFN-γ はオートクライン的に CD32 と CD64 の表現度を促し、食菌作用を増強している。血清 IFN-γ の上昇が一部の患者で認められた。この上昇は早期に起きており、対照的に IL-18 は遅れて上昇する傾向があった。IFN-γ の早期上昇が CD64 発現の増強に関与している可能性が考えられた。

E. 結論

PFAPA患者では発熱発作時に好中球ならびに単球のCD64発現の著明な増強が認められ、本症の補助診断法に有用と考えられた。発作初期の血清IFN-γの上昇はCD64発現増強に関わっている可能性が示唆さ

れた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

Migita K, Ida H, Moriuchi H, Agematsu K.
Clinical relevance of MEFV gene mutations in Japanese patients with unexplained fever.
J Rheumatol. 2012 Apr;39(4):875-7.

2. 学会発表

上松一永： 家族性地中海熱とその鑑別疾患について 膠原病の臓器障害研究会 大阪 2012年12月

H. 知的財産権の出願・登録状況 特になし。

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

自己炎症疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立

MEFV 変異を有する周期性発熱症候群におけるサイトカインプロファイルの特徴

研究分担者 谷内江昭宏 金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授

研究要旨 自己炎症疾患の中で最も頻度の高い家族性地中海熱は、早くから疾患発症と関わりの深い蛋白pyrinとそれをコードする遺伝子MEFVが明らかにされている一方、genotype-phenotypeの関連が明確でない。比較的典型的な症状を示し、コルヒチンが有効な症例では exon 10変異の頻度が高いことが知られているが、不全型あるいは非典型例とされる類縁症例の中に MEFV 遺伝子の exon 3 変異を含む多型の存在が明らかにされており、exon 3 variant と称される。

今回の研究では、exon 3 variants 症例と、exon 10 変異を有するFMFないし類縁疾患症例について、血清中の種々の炎症性サイトカインを定量、そのプロファイルの臨床的意義について検討した。その結果、exon10に変異をもつ FMF 典型例において持続的なIL-18上昇を認めた。コルヒチン投与により炎症所見が改善するにつれて、IL-18は正常化した。この結果から血清サイトカイン定量が、FMFの臨床病態を考え、その早期診断と治療反応性の評価に有用であることが示唆された。

A. 研究目的

家族性地中海熱（FMF）が疑われる周期性発熱症候群の中には、比較的典型的な臨床像を示す一群と、発熱期間や症状が典型例とは異なる、不全型あるいは非典型例と呼ぶべき一群があることが知られている。このような臨床像の違いの少なくとも一部は、原因遺伝子であるMEFVの変異の種類により説明することが可能であることが示唆されている。しかし、典型例と非典型例の臨床像の差がどのような炎症病態の差や分子機序の差により説明可能なのかは不明な点が多い。

本研究では、MEFV 遺伝子変異を有する発熱疾患患者について、血清中の種々の炎症性サイトカインを定量、そのプロファイルの

臨床的意義について検討した。さらに、コルヒチンなどによる治療介入前後でデータを比較することにより、サイトカイン定量の臨床的意義についても検討した。

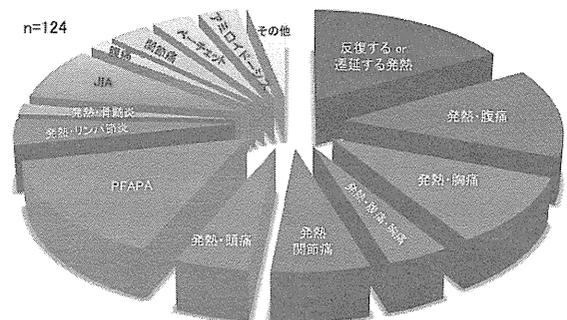


図1；発熱・炎症症例の内訳

B. 研究方法

対象：繰り返す発熱、あるいは遷延する発熱などから周期性発熱症候群が疑われた症例124例を対象とした。その内訳を図1に示す。
方法：末梢静脈血より白血球を分離、DNAを抽出した。これらの症例全てについて、MEFV 遺伝子の全 exonの配列を解析した。その結果、exon 10に変異 (M694I、あるいはM694V) を認めた症例は16名であり、その多くは対側 allele にE148Qを伴う複合ヘテロ接合体と考えられた (A群)。Exon 3 variants に分類される変異 (P369Sを含む) を認めた症例は17名であった (B群)。これらの症例について、血清サイトカイン値をELISA法により定量した。サイトカインの定量は、多くの症例においては、診断時あるいは治療開始前、発作間歇期・非発熱時に検査を施行した。さらに一部の症例では、コルヒチン投与前後での経過を観察、臨床像やCRPなどの一般炎症指標と血清IL-18との関係についても検討した。

倫理面への配慮：全ての遺伝子解析事例につ

いて、患者本人あるいは保護者にその内容を説明、納得して頂いた上で同意を得た。MEFV 遺伝子変異解析については、金沢大学医薬保健学域倫理委員会 (IRB) 規定に則って施行した。

C. 研究結果

1 ; 非発作時における血清サイトカイン
炎症性サイトカインでは、IL-18がA群でのみ高値を示した。B群ではほぼ正常範囲に留まった。検討したサイトカインの内、IL-18のみが両群間で有意差を示した (図2)。典型例の内、発作時の検討が可能であった2例では、IL-6も高値を示した。

2 ; CRPとの関係

血清CRPとIL-18の関連を図3に示す。発熱発作時には、IL-6ならびにCRPが高値を示し、IL-18も異常高値となった。しかし、非発作時・無熱時であっても、IL-18は高値を維持、CRPも多くの場合は完全に正常化はしていなかった。コルヒチン治療開始後は、いずれの症例においてもこれらの炎症指標は改善した。重要なことは、CRPのみでなく、

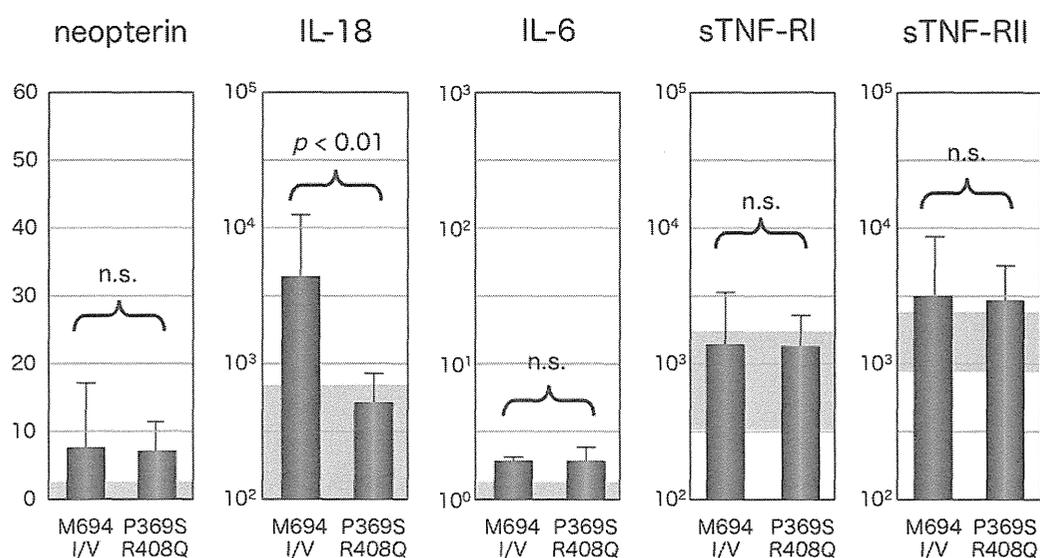


図2：MEFV遺伝子変異と血清サイトカイン

IL-18も完全に正常化したことである。

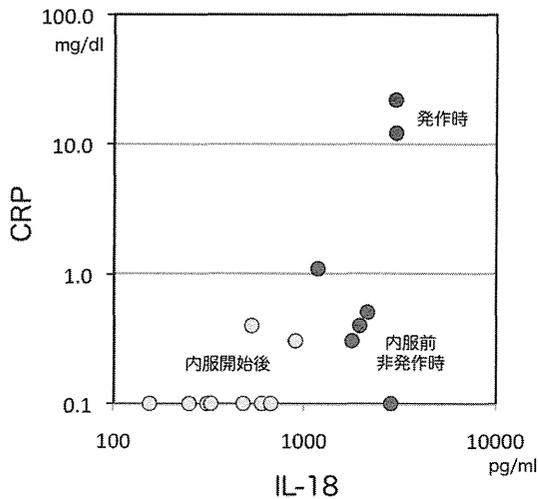


図3：CRPと IL-18

3 ; サイトカイン・プロファイルの経過

経過を観察できる症例について、発作時、非発作時ならびにコルヒチン投与後のサイトカイン・プロファイルの変化を検討した。発作時に上昇していたIL-6は非発作時には正常化した。一方、

IL-18高値は無熱時にも持続したが、コルヒチン治療により正常化した。このようなプロフィールは全身型JIAにおけるサイトカイン・プロフィールの変化と類似していた(図4)。

D. 考察

Exon 10変異を認めることが多いFMF典型例と、exon 3 variant症例で見られるような不全型の症状がどのような病態の差を反映しているかは明らかにされていない。

今回の研究では exon 10に変異をもつ FMF 典型例において持続的なIL-18上昇が確認された。この事実は、本疾患が非発作時においても継続的なinflammasomeの活性化状態が持続していることを示唆している。このようなサイトカイン・プロファイルからは、発作時の急性炎症病態に対する治療よりも基盤となっている持続的な炎症病態をいかに制御するかが重要であることが理解される。

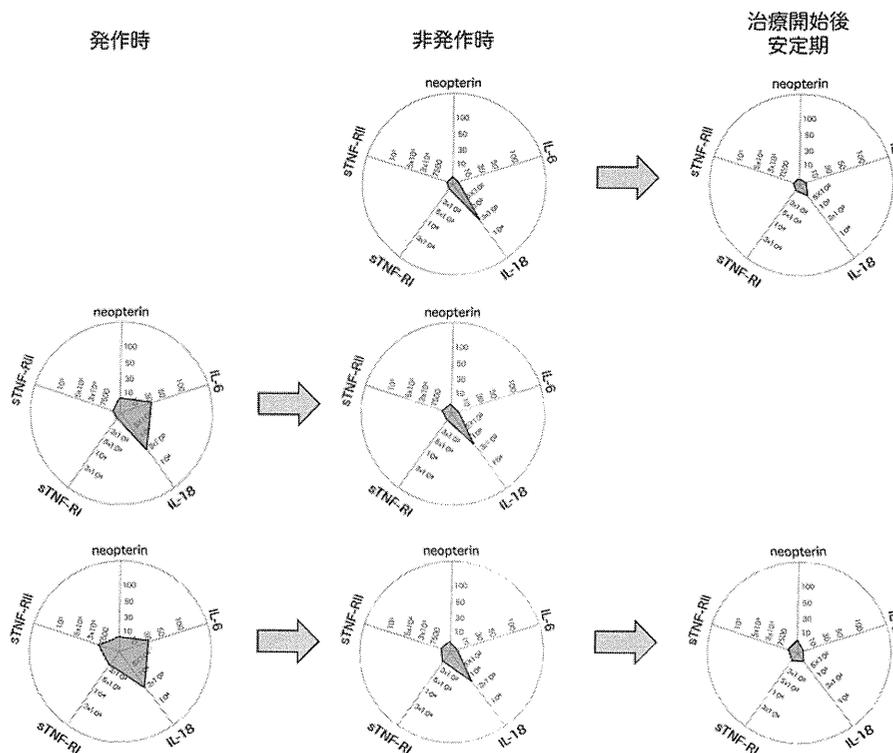


図4：臨床経過と血清サイトカイン値

E. 結論

FMF 典型例においては、IL-18高値に反映されるinflammasomeの持続的な活性化が起こっていることが示唆された。IL-18定量はFMFならびに類似疾患における炎症病態を推測し、治療反応性を評価する上で有用な指標となると考えられる。

なし

3. その他 特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Nakamura A, Masumoto J, Yachie A, Furukawa H, Ishibashi H, Ida H, Yamazaki K, Kawakami A, Agematsu K. Familial Mediterranean Fever in Japan. *Medicine*. 2012;91:337-343.
2. Shimizu M, Yachie A. Compensated inflammation in systemic juvenile idiopathic arthritis: role of alternatively activated macrophages. *Cytokine*. 2012;60:226-32.
3. Iwata K, Toma T, Yachie A. 38-year-old woman with recurrent abdominal pain, but no fever. *Int J Gen Med*. 2012;5:265-8.

2. 学会発表

1. 東馬智子、和田泰三、清水正樹、上野和之、谷内江昭宏。MEFV 変異を有する周期性発熱症候群におけるサイトカイン・プロファイリングの特徴。第22回日本小児リウマチ学会総会・学術集会。2012年10月5日～7日（名古屋）

G. 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

厚生労働科学研究費補助金（難治疾患克服研究事業）
分担研究報告書

「自己炎症性疾患とその類縁疾患に対する新規診療基盤の確立」
～PAPA(Pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum and acne)症候群～

分担研究（東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野 森尾友宏）
共同研究者（東京医科歯科大学・大学院・発生発達病態学分野
熊木恵里、重野美湖、満生紀子）
「PAPA 症候群の病態解析」

研究要旨

PAPA(Pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum and acne)症候群における PSTPIP1 遺伝子変異を同定し、患者における好中球機能の異常（刺激後の活性酸素産生及びアポトーシスの亢進）を明らかにした。また野生型 PSTPIP1 組換えタンパクと 4 種類の変異タンパクを大腸菌の中で用意し、今後の機能解析に用いる手段を確保した。また PAPA 症候群の診断フローチャート（ガイドライン）案を作成した。

A. 研究目的

PAPA(Pyogenic sterile arthritis, pyoderma gangrenosum and acne)症候群は PSTPIP1 (CD2BP1)の機能獲得型変異による常染色体優性遺伝を示す自己炎症疾患である。

主として 3 歳以下に化膿性無菌性関節炎として発症し、思春期以降に壊疽性膿皮症、嚢腫性ざ瘡を呈する。PAPA 症候群では溶血性貧血、糸球体腎炎、炎症性腸疾患など様々な合併症が報告されている。PSTPIP1 は PTP-PEST と会合することができず、リン酸化を受けさらに pyrin を活性化するとされているが、その変異と表現型との関連は未だに不明である。

本研究では責任遺伝子解析から確定した PAPA 症候群の貪食細胞機能を解析し、また変異 PSTPIP1 の機能を解析することから、PAPA 症候群の病態を解析することを目的とした。また加えて、診断に向けてのガイドライン案を策定した。

B. 研究方法

- 1) 壊疽性膿皮症を中心として嚢腫性ざ瘡、化膿性無菌性関節炎あるいは類似症状を呈する症例において PSTPIP1 遺伝子解析を実施した。
- 2) 患者から好中球を分離し、PMA 刺激、TLR 刺激、細菌刺激などの後の活性酸素（Reactive oxygen species: ROS）産生を DHR123 法及び luminol 法で解析した。またアポトーシスに関しては Annexin V / 7AAD staining にて解析を行った。
- 3) 患者における好中球異常を模倣するために、膜透過性とした組換え型タンパクを大腸菌にて作成した。具体的には 6xHis 及びヒト由来膜透過性ペプチド (protein transduction domain: PTD)Hph-1 の後に wild type あるいは mutant PSTPIP1 をつないだベクターを作成し、E. coli の中で発現誘導し、Nickel column にて精製した。Mutant としては E250K, E250Q, A230T, G258A を用意した。この中で E250K, E250Q, A230T は疾患遺伝子変異であり、G258A は壊疽性皮膚炎 + α にても同定されている変異である。

4) 得られた情報や文献検索から診断ガイドライン案を策定する。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者検体を用いて解析を行う。実際には診療に役立つ情報も得られるが、採取量及び、採取時の苦痛には十分な配慮を行う。また遺伝子解析については各種指針に則り、患者個人情報の保護について十分な配慮を行う。本研究は医学部倫理審査委員会の承認をえて行われたものである。

C. 研究結果

1) PAPA 症候群における遺伝子解析

(症例 1) 1 歳未満で溶血性貧血、脾腫を呈し、2 歳から関節炎、6 歳で若年性特発性関節炎と診断されてステロイド、MTX などで治療される。15 歳に炎症性腸疾患、17 歳から囊腫性ざ瘡、その後壊疽性膿皮症となった。タンパク尿や汎血球減少も合併する。遺伝子解析にて PSTPIP1、E250K の sporadic heterologous mutation が判明した。

(症例 2) 乳幼児期からの口内炎があり、思春期に囊腫性ざ瘡、その後壊疽性膿皮症

となった。レイノー現象あり、16 歳には多関節痛を呈した。遺伝子解析から PSTPIP1、G258A の sporadic heterologous mutation が判明した。

2) PAPA 症候群好中球機能解析

症例 1, 2 ともに PMA 刺激、LPS+fMLP 刺激による好中球からの ROS 産生が亢進していた。また未刺激状態での apoptosis、刺激後の apoptosis が健常人に比して有意に亢進していた。

E. coli 刺激、*Staph. aureus* 刺激、opsonized *Staph aureus* 刺激では症例 1 の好中球は過剰 ROS 産生を示し、症例 2 は正常あるいは低下を示した。

3) wild type および mutant PSTPIP1 組換えタンパクの作成

コンストラクトを site specific mutagenesis で作成し、大腸菌の中で発現した。1 liter 培養で数百 µg の recombinant が回収されている。現在、purification 及び可溶性に際しての条件の最適化を行っているところである。

4) 診断フローチャート案の策定 (下記参照)

PAPA症候群の診断フローチャート (案)

臨床的疑い例

1. 3歳以下から発症する反復性化膿性無菌性関節炎 (多or少関節、対称or非対称) *

2. 思春期前後よりの壊疽性膿皮症、重症膿疱性ざ瘡**

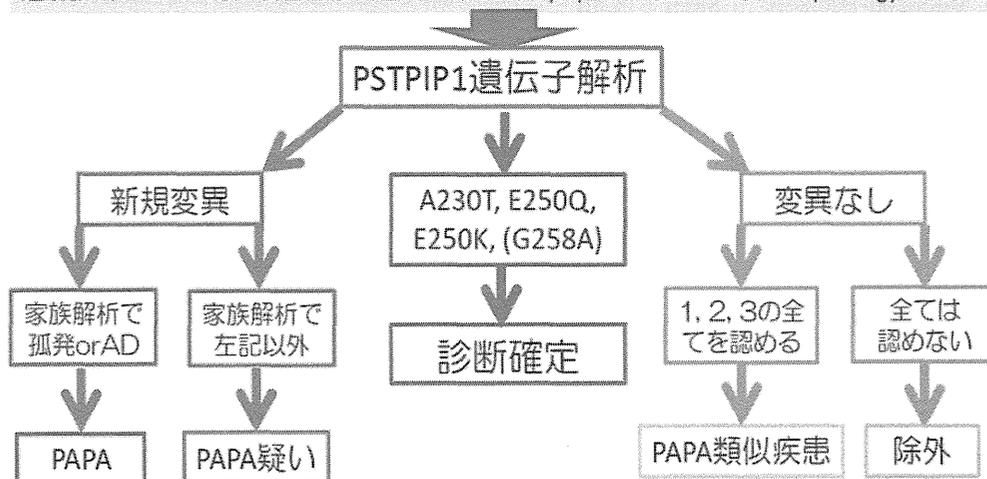
* 関節炎は外傷により惹起されることがある

**初期にワクチン接種などの際に注射部位に膿疱ができる過敏反応 (pathergy)も参考となる。

3. 常染色体優性遺伝 (あるいは孤発例) を示唆する家族歴

参考検査所見: 特徴的なものはないが、CRP高値、血中IL-1βの軽度上昇、血中好中球酵素 (エラスターゼ、MPOなど) の上昇を認める。TNFαは正常とされる。

鑑別診断: Behcet病、壊疽性膿皮症 (IBD、SLE、Lymphomaなどを合併し、pathergyを呈する)



D. 考察

本年度の研究により本邦において2例のPAPA症候群が存在することが明らかになった。両者の好中球ではROS産生及びapoptosisが亢進し、これが無菌性膿瘍や囊腫性ざ瘡の原因となっている可能性が示唆される。一方PST-PESTとの会合不全によるチロシンリン酸化やpyrinとの複合体形成亢進などの今までの報告とどのように関連づけていくかはこれからの課題である。健常人好中球と変異型組換えタンパクを用いた再現実験や正常及び変異型組換えタンパクとの会合分子の動態を検討することにより、今後病態解析が進むことが予想される。

E. 結論

PAPA症候群において遺伝子変異を確定させ、患者好中球における異常活性化を明らかにした。また変異PSTPIP1タンパクを作成し、今後の解析に有用な手段を確保した。またPAPA症候群の診療ガイドライン案を策定した。

F. 健康危険情報

報告すべき健康被害、健康危険情報はない。

G. 研究発表

1. 学術雑誌での発表 (英文論文)

1. Isoda T, Mitsui N, Ohkawa T, Kaneko S, Endo A, Ono T, Aoki Y, Tomizawa D, Kajiwara M, Araki S, Nagasawa M, **Morio T**, Takagi M, Mizutani S. Irreversible Leukoencephalopathy After Reduced-intensity Stem Cell Transplantation in a Dyskeratosis Congenita Patient With TINF2 Mutation. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2012 Dec 13. [Epub ahead of print]
2. Kawasaki Y, Toyoda H, Otsuki S, Iwasa T, Iwamoto S, Azuma E, Itoh-Habe N, Wada H, Fujimura Y, **Morio T**, Imai K, Mitsui N, Ohara O, Komada Y. A novel Wiskott-Aldrich syndrome protein mutation in an infant with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol*. 2012 Dec 12. doi: 10.1111/ejh.12057. [Epub ahead of print]
3. Shimizu M, Kanegane H, 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. 2012 Oct 26. doi:pii: S0091-6749(12)01455-8. 10.1016/j.jaci.2012.08.040. [Epub ahead of print]

4. 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.

Pediatr Blood Cancer. 2012 Sep 28. doi: 10.1002/pbc.24359. [Epub ahead of print].

5. Isoda T, Takagi M, Piao J, Nishii R, Masaki S, Masuda K, Ikawa T, Azuma M, **Morio T**, Kawamoto H, Mizutani S.

Process for immune defect and chromosomal translocation during early thymocyte development lacking ATM. *Blood*. 120:789-799, 2012.

6. 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. *Clinical Endocrinol*. 77:628-634, 2012.

7. Honda F, Kano H, Kanegane H, Nonoyama S, Kim E-S, Lee S-K, Takagi M, Mizutani S, **Morio T**.

Btk negatively regulates ROS production and stimulation-induced apoptosis in human neutrophils. *Nature Immunol*. 13: 369-378, 2012.

8. Sato R, Iizumi S, Kim E-S, Honda F, Lee S-K, Adachi N, Koyama H, Mizutani S, **Morio T**.

Impaired cell adhesion, apoptosis, and signaling in WASP-gene disrupted Nalm-6 pre-B cells and recovery of cell adhesion using a transducible form of WASp. *Int. J. Hematol*. 95:299-310, 2012.

(著書・総説)

1. 森尾友宏:(分担執筆)第21章 先天性免疫不全症 Wiskott-Aldrich 症候群、最新ガイドライン準拠 小児科診断・治療指針、遠藤文夫編、p840、中谷書店、東京、2012年9月
2. 森尾友宏:(分担執筆)第19章 リウマチ性疾患 アレルギー性疾患 先天性補体

- 欠損症 免疫不全症、赤林朗、大内尉義、黒川峰夫、小池和彦、辻省次、長瀬隆英、藤田敏郎、森屋恭爾、山本一彦編、門脇孝、永井良三編、カラー版内科学、p1333、西村書店、東京、2012年7月
3. 森尾友宏:先天性免疫不全症の病態と思春期以降のマネジメント、血液内科、**65**(4) 599-607,2012.
 4. 森尾友宏:【クローズアップ感染症】<感染性疾患の基礎的な知見の進歩・概念の変化>感染症と自然免疫、小児内科、**44**(7)959-965, 2012.
 5. 森尾友宏:【サイトカインのすべて(完全改訂版)】 サイトカイン投与およびサイトカイン抑制による治療 免疫不全症、臨床免疫・アレルギー科、**57**: Suppl.21 838-844, 2012.
 6. 森尾友宏:原発性免疫不全症における臨床遺伝学 T 細胞系免疫異常症における遺伝子診療、日本遺伝カウンセリング、**33**(1)49-53, 2012.
 7. 森尾友宏:分類不能型免疫不全症、日本臨牀、**70**:2011-2021, 2012.
 8. 森尾友宏:分類不能型免疫不全症 Update、日本臨床免疫学会雑誌、**35**:14-22, 2012.
2. 学会発表
 1. **Morio T.** Primary Immunodeficiencies due the Defect in Signaling Molecules. **2012 KSMCB Annual Meeting.** Seoul, Korea. October 2012.
 2. Isoda T, Takagi M, **Morio T**, Kawamoto H, Mizutani S. Visualization of chromosomal translocation and early T-cell development failure in ATM deficiency. **15th Biennial Meeting of the European Society of Immunodeficiencies (ESID2012).** Florence, Italy. October 2012.
 3. Mitsuiki N, Oshima K, Imai K, Ohara O, **Morio T**, Mizutani S. 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). **15th Biennial Meeting of the European Society of Immunodeficiencies (ESID2012).** Florence, Italy. October 2012.
 4. 森尾友宏 : Multivirus specific cytotoxic T-cells for post-transplant virus infection., **第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会 (シンポジウム)**、横浜、2012 年 11 月 30 日-12 月 2 日
 5. 森尾友宏:細胞内寄生菌にたいする感染防御機構、**第 44 回日本小児感染症学会総会・学術集会 (教育セミナー)**、北九州、2012 年 11 月 23 日
 6. 森尾友宏:先天性免疫不全症および血液系腫瘍において診断の手がかりとなる皮膚病変と、診断への道筋、**第 36 回日本小児皮膚科学会学術大会 (シンポジウム)**、前橋市、2012 年 7 月 15 日
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当無し

PIDJ 登録症例中の自己炎症性疾患に関する研究

研究分担者 野々山 恵章 防衛医科大学校 小児科学講座教授

研究要旨

免疫不全症データベース PIDJ 登録症例中の自己炎症性疾患の疾患頻度を明らかにした。今回明らかになった PIDJ のシステムの問題点の改善を行うこととした。

A. 研究目的

自己炎症性疾患は、周期性発熱を主症状とし、体質性に炎症を伴う症候群である。稀少疾患であるため、その臨床症状、適切な治療法、予後等は未だ明らかになっていない。

本研究の目的は、わが国での自己炎症性疾患の症例集積により、その臨床症状、疾患頻度を明らかにし、病態の解明を行うことである。

B. 研究方法

免疫不全症データベース PIDJ(Primary Immunodeficiency Database in Japan)は、わが国における原発性免疫不全症の患者登録システムであり、厚生労働省の難治性疾患克服研究事業「原発性免疫不全症候群に関する調査研究」における調査研究班、かずさ DNA 研究所、理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センターが協力し、2006 年から運営されている。

原発性免疫不全症疑い症例を診察した主治医は PIDJ に患者を登録し、厚生省研究班会議施設へ相談することが出来る。班会議施設は臨床症状の検討及び FACS、

遺伝子検査等の詳細な検査を理化学研究所やかずさ DNA 研究所と協力して行い、結果を主治医に報告するシステムが構築されている。

近年、国際免疫学会連合(International Union of Immunological Societies ;IUIS) において、自己炎症性疾患が原発性免疫不全症候群として分類されたことから、自己炎症性疾患を疑われた多くの症例が PIDJ に登録されている。

本研究では、Blau 症候群／若年性サルコイドーシス、Cryopyrin associated periodic syndrome (CAPS)、Chronic recurrent multifocal osteomyelitis(CRMO)、家族性地中海熱(FMF)、メバロン酸キナーゼ欠損症(MKD)、PAPA 症候群、TRAPS、PFAPA 症候群、NALP12-associated periodic syndrome (NALP12)、Deficiency of IL-1 receptor antagonist (DIRA)、中條・西村症候群、周期性発熱症候群等の自己炎症性疾患を疑われて PIDJ に登録された症例及び、上記の疾患と診断された患者を対象とする。

主治医及び担当班会議施設が PIDJ 上に記載したデータを収集し、疾患頻度を明

らかにする。登録症例の検体に対して免疫学的検査を行い、病態の解明を行う。

(倫理面への配慮)

データは匿名化して取り扱う。

C. 研究結果

PIDJ 発足後 5 年間で、460 症例が自己炎症性疾患を疑われて登録された。IUIS 分類は 161 例で入力があり、そのうち 73 例は疾患名を記載されていた。内訳は、FMF30 例、HIDS/メバロン酸キナーゼ欠損症 3 例、FCAS4 例、MWS5 例、NOMID/CINCA1 例、TRAPS17 例、PAPA 症候群 2 例、Blau 症候群/若年性サルコイドーシス 4 例、PFAPA 症候群疑い 2 例、その他の自己炎症性疾患 5 例であった。各疾患の頻度を明らかにすることができた。

症例の集積が進んだ FMF、CAPS、TRAPS の発症時年齢について解析し、FMF、TRAPS については幼少期から成人期まで幅広く発症し、

CAPS は幼少期～10歳台までに発症することが確認できた。

一方、PIDJ が元来は狭義の原発性免疫不全症例を対象として構築されたため、自己炎症性疾患の病態把握に必要と考えられる検査及び症状項目を、一部含んでいないことが判明した。具体的には、CRP、赤血球沈降速度(ESR)、血清アミロイド A、プロカルシトニン、サイトカインプロファイルといった検査項目及び、熱型、発作誘因、皮膚所見、漿膜炎、眼窩周囲浮腫、髄膜炎、難聴、膝蓋骨の過形成、リンパ節浮腫、アフタ性口内炎、咽頭炎、ぶどう膜炎等の臨床症状項目が不足していた。

D. 考察

PIDJ には多くの自己炎症性疾患が登録され、症例集積、病態解明の場として有用と考えられた。一方で、検査項目や症状等の記入欄が自己炎症性疾患に対応しておらず、データを取りまとめる上で障害となった。現在必須入力項目を増やすなど、システムの更新中である。

E. 結論

自己炎症性疾患の症例集積と病態解明のため、PIDJ は有用である。記載項目を整備しつつわが国における症例集積を図る必要がある。

F. 研究危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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, Zelm M, Latour S, Zhao X, Miyawaki T. Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan. *J Clin Immunol.* 2012, 32:411-20.
- 2) Ma CS, Avery DT, Chan A, Batten M, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Minegishi Y, Nonoyama S, French MA, Choo S, Peake J, Wong M, Cook MC, Fulcher DA, Casanova JL, Deenick EK, Tangye SG. Functional STAT3 deficiency compromises the generation of human T follicular helper cells. *Blood.* 2012, 26:119:3997-4008.
- 3) Honda F, Kano H, Kanegane H, Nonoyama S, Kim ES, Lee SK, 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.* 2012, 26:13:369-78.
- 4) Ishida H, Imai K, Homma K, Tamura S, Imamura T, Itoh M, Nonoyama S. GATA-2 anomaly and clinical phenotype of a sporadic case of lymphedema, dendritic cell, monocyte, B- and NK-cell (DCML) deficiency, and myelodysplasia. *Eur J Pediatr.* 2012, 171:1273-6.
 - 5) 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, Walker Minz R, Sehgal S. Clinical profile and genetic basis of Wiskott-Aldrich syndrome at Chandigarh, north India. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2012, 30:71-8.
 - 6) 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.* 2012 (in press)
 - 7) 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. Multiple reversions of an IL2RG mutation restore T cell function in an X-linked severe combined immunodeficiency patient. *J Clin Immunol.* 2012, 32:690-7.
 - 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, 95:692-6.
 - 9) Kakiuchi S, Nonoyama S, Wakamatsu H, Kogawa K, Wang L, Kinoshita-Yamaguchi H, Takayama-Ito M, Lim CK, Inoue N, Mizuguchi M, Igarashi T, Saijo M. Neonatal herpes encephalitis caused by a virologically confirmed acyclovir resistant herpes simplex virus type 1. *J. Clin. Microbiol.* 2013, 51:356-9.
 - 10) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsuiki N, Ohara O, Kanegane H, Pasic S, Pan-HammarstrAvm Q, van Zelm MC, Morio T, Imai K, Nonoyama S. Classification of common variable immunodeficiency by quantification of T cell receptor and Ig kappa-deleting recombination excision circles. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 (in press)
 - 11) Oshima K, Nagase T, Imai K, Nonoyama S, Obara M, Mizukami T, Nunoi H, Kanegane H, Kuribayashi F, Amemiya S, Ohara O. A dual reporter splicing assay using HaloTag-containing proteins. *Curr Chem Genomics.* 2012 (in press)
- ## 2. 学会発表
- 1) Clinical feature and Immunological abnormality of GATA2 mutation 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. The 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. (Florence Italy, Oct.3-6, 2012)
 - 2) Classification of common variable immunodeficiency by quantification of T cell receptor recombination excision circles (TREC) and IG Kappa-deleting recombination excision circles (KREC).