

201231128A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

先天性免疫不全症候群の病態解明と予後改善に関する研究

平成24年度総括・分担研究報告書

研究代表者 峯岸克行

平成25年3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

先天性免疫不全症候群の病態解明と予後改善に関する研究

平成24年度総括・分担研究報告書

研究代表者 峯岸克行

平成25年3月

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業

先天性免疫不全症候群の病態解明と予後改善に関する研究

目次

I	班員・研究協力者名簿	5
II	総括研究報告 峯岸克行（徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター病態プロテオゲノム分野教授）	9
III	分担研究報告	
1.	高 IgE 症候群における骨病変の発症機構の解明 峯岸克行 徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター病態プロテオゲノム分野 教授	19
2.	日本国内の高 IgE 症候群患者の臨床像 高田英俊 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 准教授	23
3.	次世代シーケンシングによる高 IgE 症候群の予後予測判定因子の発見 小原 収 独立行政法人理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫ゲノミクス研究グループ グループリーダー	27
4.	高IgE症候群に関与する遺伝要因の探索 玉利真由美 広田朝光 独立行政法人理化学研究所ゲノム医科学研究センター 呼吸器疾患研究チーム チームリーダー	33
IV	研究成果の刊行に関する一覧表	37
V	代表的な研究成果の刊行物	45

I 班員・研究協力者名簿

先天性免疫不全症候群の病態解明と予後改善に関する研究班 班員・研究協力者名簿

区分	研究代表者	所属等	職名
研究代表者	峯岸克行	徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター 病態プロテオゲノム分野	教授
研究分担者	高田英俊	九州大学大学院医学研究院成長発達医学・小児科学	准教授
	小原 収	理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫ゲノミクス研究グループ	グループ ディレクター
	玉利真由美	理化学研究所 ゲノム医科学研究センター 呼吸器疾患研究チーム	チームリーダー
研究協力者	広田朝光	理化学研究所 ゲノム医科学研究センター 呼吸器疾患研究チーム	研究員
事務局	峯岸克行	徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター 病態プロテオゲノム分野 〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町 3-18-15 TEL 088-633-9152, FAX 088-633-9155 e-mail: yminegishi@genome.tokushima-u.ac.jp	教授
経理事務担当者	松井直美	徳島大学財務部蔵本会計事務センター室 第二経理係 〒770-8503 Tel: 088-633-9554 Fax: 088-633-9555 e-mail: krakai2c@tokushima-u.ac.jp	係長

Ⅱ 総括研究報告

総括研究報告

先天性免疫不全症候群の病態解明と予後改善に関する研究

研究代表者 峯岸克行

(徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター病態プロテオゲノム分野教授)

研究要旨

本先天性免疫不全症候群の病態解明と予後改善に関する研究班は、免疫不全症の病態解明と予後改善を目的として以下の研究を行った。

(1) 高 IgE 症候群における骨病変の発症機構の解明

高 IgE 症候群は、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎、アトピー性皮膚炎と血清 IgE の著しい高値を合併する先天性免疫不全症である。STAT3 遺伝子のドミナントネガティブ (DN) 変異が原因で発症する 1 型の高 IgE 症候群は骨異常の合併を特徴とするが、その病態形成機構は明らかになっていなかった。この骨異常のメカニズムを検討し、骨芽細胞の機能低下による骨の機械的強度の低下と骨芽細胞上の RANKL (Receptor activator of NF- κ B Ligand) の発現低下とそれによる破骨細胞の分化障害があることを明らかにした。さらに、その分子メカニズムを検討し STAT3 は炎症による骨破壊だけではなく、生理的な骨破壊にも重要な役割を果たしていることを示した。これは、一般の骨粗鬆症の治療に STAT3 の機能制御が有効である可能性を示唆する。

(2) 日本国内の高 IgE 症候群患者の臨床像

日本国内の高 IgE 症候群の患者の臨床的特徴を明らかにするために、日本人の高 IgE 症候群の臨床調査を行った。確認できた患者数は 46 名で、男女比は 25 : 21、年齢は 0 歳から 50 歳で中央値は 11 歳であった。責任遺伝子の解析結果では、STAT3 遺伝子変異 20 例、TYK2 遺伝子変異 1 例、検索中・遺伝子変異なし 9 例、未施行 16 例であった。骨系統の異常は、遺伝子解析が行われた症例では、STAT3 遺伝子変異例でのみ認められた。この臨床データを基に下記の高 IgE 症候群の診断基準案を策定した。

診断基準案 全例に 2000 IU/ml 以上の高 IgE 血症を認める。

大症状

- 1) 新生児期より発症するアトピー性皮膚炎
- 2) 黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍または肺炎に合計 3 回以上罹患
- 3) 肺嚢胞
- 4) 乳歯の脱落遅延

小症状

- 1) 病的骨折
- 2) 特有の顔貌
- 3) 関節の過伸展
- 4) 脊椎側弯症
- 5) 真菌感染症

大症状 3 項目以上または大症状 2 項目と小症状 2 項目以上で高 IgE 症候群と診断

(3) 次世代シーケンシングによる高IgE症候群の予後予測判定因子の発見

先天性免疫不全症候群の高IgE症候群に焦点を当て、この疾患群の予後予測因子の同定を行い、本疾患の病態を解明する。これにより単一遺伝子の異常によって生じる多様な病態の発症機序を探り、骨粗鬆症、アトピー性皮膚炎、高IgE血症などの新規の診断法、治療法とケア、予後予測に結びつけることを目指す。特にこの研究では、高IgE血症の臨床検体の血球のゲノム解析により、各症例における遺伝的変異情報と血球での遺伝子発現動態を解析することを目的とする。本研究を実施するため、理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センターに新たにイルミナ社HiSeq1000を導入し、ライブラリー構築の実験系から後のデータ解析までのバイオインフォマティクス系のパイプラインを構築した。更に、本研究班での臨床検体分析のための倫理審査が終了するまでの間、市販ヒト検体を用いて、特に白血球分画、単核球分画、造血・免疫系分画細胞についてのRNAシーケンシングを実施し、臨床検体での解析のためのリファレンスとする発現プロファイルデータを蓄積した。特に、本研究班では、RNAシーケンシングを全エクソンシーケンシングデータの補完のために使用する予定であるため、RNAシーケンシングデータからリファレンス配列との塩基置換を検出するための解析システムも立ち上げた。その実験結果から、同じ次世代シーケンシングのプラットフォームを用いても、RNAシーケンシングにおいては全エクソーム解析よりも多数の塩基置換が検出されてしまう事が明らかとなった。

(4) 高IgE症候群に關与する遺伝的要因の探索

高IgE症候群はアトピー性皮膚炎、高IgE血症などのアレルギー病態を伴う先天性免疫不全症である。近年、その原因としてSTAT3のドミナントネガティブ遺伝子変異が同定されたが、その臨床経過は様々で同一の遺伝子変異を有しながら重症例と軽症例が存在し、さらなる遺伝的要因の解明が待たれている。また高IgE症候群はしばしば重症アトピー性皮膚炎との鑑別が困難であり、両者に共通の遺伝的要因が存在する可能性が考えられる。本研究では高IgE血症の遺伝的要因を詳細に明らかにするとともに、アトピー性皮膚炎に關連する遺伝子群を同定することを目的とする。本年度は重症アトピー性皮膚炎症例(血清IgE値>10000IU/ml)に着目して關連解析を行い、CCR4近傍のSNPとの間に強い關連 ($P=2.5 \times 10^{-7}$) があることを認めた。STAT3変異高IgE症候群症例においてもCCR4近傍のSNPが高IgE症候群の症状にどのような貢献をしているかを今後検討していく。

分担研究者

高田英俊・九州大学大学院医学研究院成長発達医学・小児科学分野准教授

小原 収・独立行政法人理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター 免疫ゲノム研究グループ グループリーダー

玉利真由美 独立行政法人理化学研究所ゲノム医科学研究センター 呼吸器疾患研究チーム チームリーダー

研究協力者

広田朝光 独立行政法人理化学研究所ゲノム医科学研究センター 呼吸器疾患研究チーム研究員

I. 研究の目的

先天性免疫不全症は、ヒト免疫系遺伝子の異常が原因で発症する疾患である。代表的な病型だけでも約40種存在するが、最近同一の遺伝子異常があっても軽症例と重症例があり、予後の予測が困難であることが明らかになってきた。本研究では、先天性免疫不全症の詳細な検討を行い、その臨床症状、免疫能、遺伝子多型を検討することにより、予後因子を明らかにし、各症例に適切な個別化医療を提供する基盤を整備することを最大の目的とする。その突破口として、申請者が原因遺伝子を最近発見した高IgE症候群を対象とし、次に、先天性免疫不全症全体で同様の検討を行う。本研究の特色・独創的な点は、申請者が高IgE症候群の原因を世界で最初に見出し、さらに同じ遺伝子異常が存在するにもかかわらず、重症型と軽症型が存在することを見出したことがある。これに関する先行研究は存在せず、本研究は世界をリードする。

我々がSTAT3のドミナントネガティブ変異が原因であることを世界で初めて発見した。その病態を明らかにしてきた。さらに、すでに高IgE症候群のマウスモデルを樹立している。しかし、本症の重症アトピーとの鑑別は困難で、病態形成機構は不明の点が多く、治療には多くの課題が残されている。そこで、初年度に高IgE症候群の詳細な臨床経過を全国調査し、正確な早期診断を可能にする診断基準案を策定する。さらに、同じSTAT3の遺伝子変異を有する症例であっても、一部の症例においては早期から肺の器質的疾患が進行し、20歳代で死亡する症例が多数存在する。一方で対症療法のみで肺の器質的病変が出現せず、良好な経過をとる症例もある。初年度と次年度でこの予後不良群と予後良好群を臨床的、遺伝

学的、免疫学的方法で精査することより鑑別する方法を見出し、それぞれに対して適切な個別化医療の基盤を構築することが本研究計画の最重要の目的である。さらに、初年度と次年度で病態形成機構の解明を進めていく。

II. 研究方法

(1) 高IgE症候群の全国調査と診断基準の策定

初年度に全国の高IgE症候群症例を診療している施設にアンケート調査を行う。アンケート調査項目には、高IgE症候群症例の、年齢、性別、家族歴、血清IgE、IgG、IgA、IgM値、皮膚膿瘍・肺炎の罹患回数、好酸球数、新生児湿疹・カンジダ症・悪性リンパ腫罹患・細胞内寄生菌感染症の有無、肺の器質的変化（気管支拡張症、肺嚢胞）の有無、乳歯の脱落遅延の有無と本数、脊椎側弯症の有無と角度、病的骨折・特有の顔貌・中心線の異常・関節の過伸展の有無、鼻根間距離の拡大・高口蓋の有無、その他合併症を含む。さらに、これらの症状がどのような時期に出現したかを精査する。そのほか、気管支喘息、花粉症などのアレルギーの有無、各種のワクチン接種に対する副反応の有無や抗体価の上昇や治療経過を調査する。さらにそれ以外の自己免疫疾患、川崎病、神経疾患、血管系疾患の有無についても包括的に調査を行う。この調査を基にして、日本人の高IgE症候群の診断基準を策定する。特に現在の診断基準では重症のアトピーとの鑑別が困難であったので、臨床的にこれと鑑別するための診断基準案を提供する。

(2) 高IgE症候群の臨床像と各種検査所見の関連を検討する

これまでの報告では、高 IgE 症候群の臨床像と STAT3 変異の種類には明確な関係は見られないとされていたが、最近の NIH のグループの報告では変異が DNA 結合領域に存在するものと、SH2 領域に存在するものでは臨床像が異なるとの報告がある。これまで日本人の高 IgE 症候群においては Genotype-Phenotype correlation の詳細な検討は行われていないので、高 IgE 症候群症例の STAT3 変異の部位や種類と臨床像の間に関連がないかを初年度に検討する。

高 IgE 症候群症例においては、STAT3 の変異により IL-6, IL-10, IL-21, IL-21 などのサイトカインのシグナル伝達異常が起こり、これが高 IgE 症候群症例で見られる黄色ブドウ球菌感染症やアトピー性皮膚炎、高 IgE 血症に関与している可能性が示唆されている。そこで、高 IgE 症候群の重症度・予後とこれらのサイトカインシグナル伝達障害の程度の間に関連がないかどうかを検討する。高 IgE 症候群症例において、whole exome sequencing を行い、その重症度や予後を規定する遺伝子多型を見出す。特に肺の器質的な変化と関連する遺伝子異常を検討する。さらに全エクソンシーケンシング法などを用いて肺の器質的な変化を有する群と有さない群とで異なる遺伝子多型の検索を行う。当初は候補遺伝子の検討から開始し、STAT3 のシグナル伝達に関与する分子、細菌感染症の制御に関与する遺伝子、肺胞機能に関与する遺伝子に着目し肺に器質的な変化を起こしやすい高 IgE 症候群症例を抽出できるかを検討する

(3) 高 IgE 症候群の病態形成機構の解明

高 IgE 症候群はその原因遺伝子が STAT3 と我々の研究により明らかになったものの、その病態形成機構はほとんど明らかにされ

ていない。特に骨粗鬆症の発症メカニズム、アトピー性皮膚炎の発症メカニズムを解明することは、高 IgE 症候群の病態形成機構の解明にとどまらず、一般の骨粗鬆症・アトピー性皮膚炎の診断・治療に有用である可能性があり、その重要性が高い。モデルマウスと高 IgE 症候群由来の検体を用いてその病態形成機構を明らかにする。

III 研究結果と考察

(1) 高 IgE 症候群における骨病変の発症機構の解明

高 IgE 症候群は、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎、アトピー性皮膚炎と血清 IgE の著しい高値を合併する先天性免疫不全症である。骨異常を特徴とする 1 型の高 IgE 症候群の主要な原因が STAT3 のドミナントネガティブ (DN) 変異であることが明らかになったが、その病態形成機構には多くの不明な点が残されている。この骨異常の発症機構を検討する目的で、STAT3-DN を全身に発現する高 IgE 症候群のモデルマウスを作製した。このモデルマウスの検討により骨芽細胞の機能低下による骨の機械的強度の低下と骨芽細胞上の RANKL (Receptor activator of NF- κ B Ligand) の発現低下とそれによる破骨細胞の分化障害を明らかにしてきたが、その分子メカニズムは不明であった。今回我々は、このメカニズムを検討し STAT3 は炎症による骨破壊だけではなく、生理的な骨破壊にも重要な役割を果たしていることを示した。このことは、骨粗鬆症の治療に STAT3 の機能制御が有効である可能性を示唆している。

(2) 日本国内の高 IgE 症候群患者の臨床像

高 IgE 症候群の国内患者の特徴を明らかにするために、原発性免疫不全症候群に関する全国疫学調査のデータから、高 IgE 症候群に関するものを解析した。患者数は 46 名で、男女比は 25 : 20、年齢は 0 歳から 50 歳で中央値は 11 歳であった。責任遺伝子の解析結果では、*STAT3* 遺伝子変異 20 例、*TYK2* 遺伝子変異 1 例、検索中・遺伝子変異なし 9 例、未施行 16 例であった。骨系統の異常は、遺伝子解析が行われた症例では、*STAT3* 変異例のみで認められた。*STAT3* 変異の有無で細菌・真菌・細胞内寄生菌に有意差は認めなかったが、AR-HIES に多いとされる重篤なウイルス感染症が *STAT3* 変異例でみられた。精神運動発達遅滞が 4 例、若年発症の梗塞が 1 例認められた。

(3) 次世代シーケンシングによる高 IgE 症候群の予後予測判定因子の発見

本研究では、先天性免疫不全症候群の中でも、高 IgE 症候群に特に焦点を当て、その疾患群の予後予測判定因子の同定を行い、本疾患の病態を解析する。それによって、単一遺伝子の異常によって生じる多様な病態の発症機序を探り、骨粗鬆症、アトピー性皮膚炎、高 IgE 血症などの新規の診断法、治療法とケア、予後予測に結びつけることを目指す。特にこの分担研究では、高 IgE 血症の臨床検体の血球のゲノミクス解析により、各症例における遺伝的変異情報と血

球での遺伝子発現動態を解析することを目的とした。本年度は、このための基盤整備として、次世代シーケンシングによる病態解析のアプローチとして主として RNA シーケンシング解析を進め、その有効性を確認するとともに、ゲノム構造解析との比較の上でその問題点を抽出した。

(4) 高 IgE 症候群に關与する遺伝要因の探索

高 IgE 症候群はアトピー性皮膚炎、高 IgE 血症などのアレルギー病態を伴う先天性免疫不全症である。近年、その原因として *STAT3* の遺伝子変異が同定されたが、その臨床経過は様々であり、さらなる遺伝的要素の解明が待たれている。またしばしば高 IgE 症候群は重症アトピー性皮膚炎との鑑別が困難であり、両者に共通の遺伝要因が存在する可能性がある。本研究は高 IgE 血症の遺伝要因を詳細に明らかにするとともに、アトピー性皮膚炎に關連する遺伝子群を同定することを目的とする。本年度は重症アトピー性皮膚炎症例(血清 IgE 値 >10000IU/ml)に着目して關連解析を行い、*CCR4* 近傍の SNP との間に強い關連 ($P=2.5 \times 10^{-7}$) があることを認めた。今後、*STAT3* 変異高 IgE 症候群症例において *CCR4* 近傍の SNP の検討を行う。

Ⅲ 分担研究報告書

高 IgE 症候群における骨病変の発症機構の解明

峯岸克行 徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター病態プロテオゲノム分野 教授

研究要旨

高 IgE 症候群は、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎、アトピー性皮膚炎と血清 IgE の著しい高値を合併する先天性免疫不全症である。骨異常を特徴とする 1 型の高 IgE 症候群の主要な原因が STAT3 のドミナントネガティブ (DN) 変異であることが明らかになったが、その病態形成機構には多くの不明な点が残されている。この骨異常の発症機構を検討する目的で、STAT3-DN を全身に発現する高 IgE 症候群のモデルマウスを作製した。このモデルマウスの検討により骨芽細胞の機能低下による骨の機械的強度の低下と骨芽細胞上の RANKL (Receptor activator of NF- κ B Ligand) の発現低下とそれによる破骨細胞の分化障害を明らかにしてきたが、その分子メカニズムは不明であった。今回我々は、このメカニズムを検討し STAT3 は炎症による骨破壊だけではなく、生理的な骨破壊にも重要な役割を果たしていることを示した。このことは、骨粗鬆症の治療に STAT3 の機能制御が有効である可能性を示唆している。

A. 研究の目的

骨異常を特徴とする 1 型の高 IgE 症候群において、その原因が STAT3 のドミナントネガティブ変異であることが明らかになったが、STAT3 の分子異常がどのようなメカニズムで骨異常を引き起こしているかは明らかでない。そこで我々は、骨異常が発症するメカニズムを検討するために、STAT3-DN のマウスモデルを樹立し、高 IgE 症候群の骨異常の原因を検討した。本研究は高 IgE 症候群の骨症状に対する有効な治療法、さらには一般の骨粗鬆症の新たな制御法を見いだすことを目的としている。

B. 研究方法

STAT3 の異常は LIF のシグナル伝達を障害して ES 細胞の生存と増殖に悪影響を及ぼす可能性があるため、野生型 STAT3 の cDNA とネオマイシン耐性遺伝子を loxP 配列ではさみ、その下流にヒトで発見された Δ V463 の変異を導入した exon 16 を配置することにより、コンディショナルに STAT3 変異体

の発現ができるようにコンストラクトを設計した。キメラマウスの germline transmission を確認し、このマウスを卵細胞特異的に Cre を発現する Zp3-Cre マウスの雌と交配し、全身に STAT3-DN を発現するモデルマウスを樹立した。このマウスにおいては、ヒトの高 IgE 血症と同様に、高 IgE 血症、Th17 サイトカインの産生障害などが見られることが予備的解析により明らかになった。

C. 研究結果

1. 高 IgE 症候群モデルマウスの骨芽細胞機能

新生した骨に取り込まれる蛍光色素、カルセインを 96 時間間隔で 2 回投与し、骨の新生能を生体内で検討した。STAT3-DN マウスにおいては骨芽細胞の骨新生能が低下していることが明らかとなった。In vitro においても頭蓋冠由来の骨芽細胞の分化能は低下していた。さらにこのマウスの大腿骨の機械的強度を検討すると STAT3-DN マウス

においては、野生型マウスと比較して弱い外力で骨折し、ヒトと同じ臨床症状を呈していることが明らかになった。

2. 高 IgE 症候群モデルマウスの破骨細胞分化

STAT3-DN マウスの *in vivo* の破骨細胞数は野生型マウスと比較して顕著に減少していた。しかし *in vitro* の M-CSF と RANKL による破骨細胞分化を検討すると、STAT3-DN マウスの骨髄細胞は正常に破骨細胞分化した。そこで、活性型ビタミン D3 とプロスタグランジン E2 (PGE2) で刺激した骨芽細胞上での破骨細胞分化を共培養法により検討すると、STAT3-DN 由来の骨髄細胞は正常に破骨細胞に分化するが、STAT3-DN 由来の骨芽細胞は正常骨髄細胞の破骨細胞分化を誘導できないことが明らかとなった。さらに、STAT3-DN マウス骨芽細胞では活性型ビタミン D3 と PGE2 刺激後の RANKL の発現が低下していた。

3. 骨芽細胞の RANKL 発現低下のメカニズム

これまでは STAT3 は炎症性の骨破壊には関与するが、ビタミン D3 や副甲状腺ホルモン (PTH) などの生理的骨吸収のシグナル伝達には STAT3 は関与しないと考えられていた。しかし今回我々は、これらの生理的骨吸収誘導分子は急速に IL-6 ファミリーサイトカインの発現を誘導し、この発現が RANKL の持続的発現と破骨細胞分化に必要であることを証明した。さらに、STAT3 は RANKL のプロモーター領域に結合してその転写を誘導することを明らかにした。

D. 考察

STAT3 分子異常により発症する高 IgE 症候群は、骨と歯牙の異常の合併に臨床的特

徴がある。しかし、その原因は世界的にも不明であったが、今回の我々の検討により、高 IgE 症候群においては、STAT3 の機能低下のために骨芽細胞の機能障害が見られること、骨芽細胞の RANKL 発現が低下しているために破骨細胞分化が低下していること、STAT3 はビタミン D3 や PTH などの生理的骨破壊の誘導にも必須の役割を果たしていることが明らかとなった。これらが、高 IgE 症候群において骨粗鬆症と病的骨折、さらには乳歯の脱落遅延の原因となっているものと考えられた。この知見は高 IgE 症候群だけでなく、一般の骨粗鬆症の制御にも有用である可能性が考えられた。

E. 結論

ヒトの STAT3 の遺伝子異常により発症する高 IgE 症候群において、骨芽細胞の機能異常により骨新生能の低下と破骨細胞数の減少が起こっており、これが高 IgE 症候群に独特の骨粗鬆症、病的骨折、独特の顔貌、乳歯の脱落遅延の原因になっていると考えられた。

F. 研究発表

G. 研究発表

1. 学会発表

1. Minegishi Y "Molecular Pathogenesis of Hyper IgE Syndrome" The 4th international symposium of Immunological Self, Kyoto, Jan 27-28, 2012
2. Minegishi Y "Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome International symposium "New Horizons in the Immune System", Tokushima, Feb 9-10, 2012
3. Minegishi Y "Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome" Spring Conference of the Korean Association

- of Immunologists, Seoul, Korea, April 13, 2012
4. Minegishi Y “Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome” Brain Korea 21 Project for Functional Foods and Nutrigenomics at Yonsei university, Seoul, Korea, April 13, 2012
 5. Minegishi Y “Molecular Mechanisms of Hyper IgE Syndrome” Immune System and Primary immunodeficiency at RCAI May 22, 2012
 6. Minegishi Y, “Hyper-IgE syndrome” 15th biennial meeting of European Society for Immunodeficiency, Florence, Italy, Oct. 3-6, 2012

2. 論文発表

1. Ma CS, Avery DT, Chan A, Batten M, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Kreins AY, Averbuch D, Engelhard D, Magdorf K, Kilic SS, Minegishi Y, Nonoyama S, French MA, Choo S, Smart JM, Peake J, Wong M, Gray P, Cook MC, Fulcher DA, Casanova JL, Deenick EK, Tangye SG. Functional STAT3 deficiency compromises the generation of human T follicular helper cells. *Blood* 119, 3997-4008, 2012
2. Ogawa H, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Th2-inducing cytokines IL-4 and IL-33 synergistically elicit the expression of transmembrane TNF- α on macrophages through the autocrine action of IL-6. *Biochem Biophys Res Commun.* 420, 114-118, 2012

3. Minegishi Y, Saito M. Cutaneous Manifestations of Hyper IgE Syndrome. *Allergol Int.* 61, 191-196, 2012

4. Egawa M, Mukai K, Yoshikawa S, Iki M, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Inflammatory monocytes recruited to allergen-exposed skin acquire an anti-inflammatory property via basophil-derived IL-4. *Immunity* 2013 (in press)

5. 峯岸克行 高IgE症候群 知っておきたい内科症候群 109, 1495-1496, 2012

6. 峯岸克行 高IgM症候群 知っておきたい内科症候群 109, 1497-1498, 2012

7. 峯岸克行 高IgE症候群と感染症 化学療法の領域 27, 80-84, 2012

8. 峯岸克行 日本医事新報 高IgE症候群の原因遺伝子解析の現況と臨床応用の可能性 4610, 57-58, 2012

9. 峯岸克行 高IgE症候群により発症するアトピー性皮膚炎 臨床・免疫アレルギー科 58, 667-670, 2012

10. 峯岸克行 STAT3の異常によるアトピー性皮膚炎の発症機序 臨床・免疫アレルギー科 59, 160-164, 2013

H. 知的財産権の出願登録状況
該当なし

日本国内の高 IgE 症候群患者の臨床像

研究分担者 高田英俊 九州大学大学院医学研究院成長発達医学 准教授

研究要旨

高 IgE 症候群の国内患者の特徴を明らかにするために、原発性免疫不全症候群に関する全国疫学調査のデータから、高 IgE 症候群に関するものを解析した。患者数は 46 名で、男女比は 25 : 20、年齢は 0 歳から 50 歳で中央値は 11 歳であった。責任遺伝子の解析結果では、*STAT3* 遺伝子変異 20 例、*TYK2* 遺伝子変異 1 例、検索中・遺伝子変異なし 9 例、未施行 16 例であった。骨系統の異常は、遺伝子解析が行われた症例では、*STAT3* 変異例のみで認められた。*STAT3* 変異の有無で細菌・真菌・細胞内寄生菌に有意差は認めなかったが、AR-HIES に多いとされる重篤なウイルス感染症が *STAT3* 変異例でみられた。精神運動発達遅滞が 4 例、若年発症の梗塞が 1 例認められた。これらの結果を基に、さらに詳細な臨床データを得るため、高 IgE 症候群の全国疫学調査を行う必要がある。

A. 研究目的

高 IgE 症候群は、易感染性、難治性湿疹、高 IgE 血症を三主徴とする原発性免疫不全症候群である。責任遺伝子として、*STAT3*、*TYK2*、*DOCK8* などが同定されているが、これらの遺伝子異常のない患者も多い。また、高 IgE 症候群の国内症例の特徴は明らかにされていない。今回、高 IgE 症候群の国内症例の特徴を明らかにするために、高 IgE 症候群の全国疫学調査を行い、そのデータを解析した。

B. 研究方法

原発性免疫不全症候群に関する全国疫学調査を行い、そのデータを解析した。
(倫理面への配慮)
この研究は九州大学倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

高 IgE 症候群として 46 例が報告されていた。男女比は 25:20 であり、1 名は性別の記載がなかった。年齢は 0 歳から 50 歳であり、中央値は 11 歳であった (図 1)。遺伝子解析の結果を図 2 に示す。未施行患者が多い点が今後の課題である。

図 1

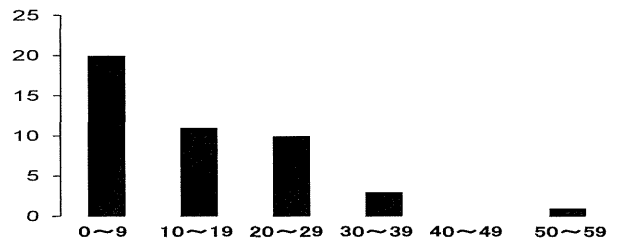
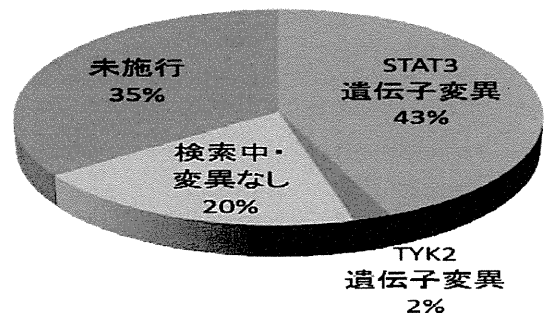


図 2



国内の高 IgE 症候群患者の臨床像のうち、感染症以外の内容を表 1 に示す。易骨折、乳歯脱落遅延、側彎、関節過伸展などの骨系統の異常は、遺伝子解析が行われた症例では *STAT3* 遺伝子異常患者のみに認められた。

表 1

項目	全体		STAT3変異		変異なし		STAT3 vs 変異なし
	(n=46)	%	(n=20)	%	(n=9)	%	
易骨折	5	11	3	15	0	0	P=0.53
乳歯脱落遅延	11	24	10	50	0	0	P=0.01
脊椎側弯症	5	11	5	25	0	0	P=0.15
関節過伸展	7	15	5	25	0	0	P=0.15
顔貌異常	22	48	13	65	6	67	P=0.45
アトピー性皮膚炎	40	87	19	95	8	88	P=0.53
粗い皮膚	19	41	12	60	2	22	P=0.11
寒冷膿瘍	29	63	16	80	6	67	P=0.64
ヘルペス感染症	3	7	2	10	0	0	P=1.0

感染症の種類について表 2 に示す。STAT3 遺伝子変異の有無で、細菌・真菌・細胞内寄生菌感染症の感染しやすさに関しては、統計学的に有意差を認めなかった (表 2)。

常染色体劣性遺伝形式をとる高 IgE 症候

群で多いとされているウイルス感染症は、今回の調査では TYK2 遺伝子変異、STAT3 遺伝子変異患者いずれにも射止められた。遺伝子変異のない高 IgE 症候群患者ではウイルス感染症は認められなかった。

感染症	全体		STAT3変異		変異なし		STAT3 vs 変異なし
	(n=45)	%	(n=20)	%	(n=9)	%	
中耳炎	26	58	11	55	6	67	P=0.69
副鼻腔炎	10	22	4	20	2	22	P=1.0
細菌性肺炎	27	60	14	70	4	44	P=0.24
リンパ節炎	12	27	4	20	3	33	P=0.64
皮下膿瘍	27	60	13	65	4	44	P=0.42
肝膿瘍	1	2	0	0	0	0	-
カンジダ肺炎	1	2	1	5	0	0	P=1.0
鷲口瘡	7	16	4	20	0	0	P=0.28
カンジダ食道炎	0	0	0	0	0	0	-
MAC感染症	2	4	1	5	1	11	P=1.0
BCG感染症	2	4	1	5	1	11	P=1.0
結核	0	0	0	0	0	0	-

表 2

高 IgE 症候群では、繰り返す気道感染症の結果、気管支拡張症や肺嚢胞が起こることが知られている。今回、高 IgE 症候群患者の肺機能検査は以下の結果であった。

%VC: 87.8±7.3%(62~106%)

FEV1.0% : 96.4±3.5% (88~108%)

高 IgE 症候群患者の感染予防に関して調べたところ、ST 合剤の内服を毎日あるいは

週三回内服している患者は 55%であった。」合併症として、精神運動発達遅滞が 4 例、若年発症の脳梗塞が 1 例認められた。

D. 考察

国内の高 IgE 症候群患者は海外の報告と同様に STAT3 遺伝子変異を有している患者が多かった。呼吸器合併症の予防は重要な

課題であるが、肺機能検査が行われていた症例では、肺機能は比較的保たれていると考えられた。感染予防としてST合剤を内服している患者の割合が少ないことは、今後の課題であると考えられた。中枢神経合併症に関しては、症例数が少なく、今後詳細な調査が必要であろう。

E. 結論

高 IgE 症候群の国内患者の現状を明らかにすることができたが、今後、高 IgE 症候群の遺伝的背景を明らかにし、病型ごとの詳細な解析、感染予防、合併症予防が重要である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

論文

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. 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
3. 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)
4. Imagawa T, Nishikomori R, Takada H, Takeshita S, Patel N, Kim D, Lheritier K, Heike T, Hara T, Yokota S. Safety and efficacy of canakinumab in Japanese patients with phenotypes of cryopyrin-associated periodic syndrome as established in the first open-label, phase-3 pivotal study (24-week results). *Clin Exp Rheumatol* (in press)
5. Nanishi E, Ohga S, Doi T, Ishimura M, Ihara K, Takada H, Shima M, Hara T. Complete immunotolerance induction after FEIBA prophylaxis in a haemophilia A patient with high-titre inhibitor. *Haemophilia*. 18: 75-77, 2012
6. Uchida Y, Matsubara K, Wada T, Oishi K, Morio T, Takada H, Iwata A, Yura K, Kamimura K, Nigami H, Fukaya T. Recurrent bacterial meningitis by three different pathogens in an isolated asplenic child. *J Infect Chemother*. 18: 576-580, 2012
1. Takada H, Ishimura M, Doi T, Imai K, Sasahara Y, Kanegane H, Nishikomori R, Morio T, Heike T, Kobayashi M, Ariga S, Tsuchiya S, Nonoyama S, Miyawaki T, Hara T: Nation-wide survey of patients with primary immunodeficiency diseases in Japan: 2008. 国際学会

- 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 3-5, 2012, Firenze
2. Takada H, Nozaki M, Ishimura M, Ihara K, Imai K, Morio T, Kobayashi M, Nonoyama S, Hara T: Endocrine complications in primary immunodeficiency diseases in Japan. 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 3-5, 2012, Firenze
3. Hara T, Eljaafari FM, Takada H: IFN- γ production from cord blood NK cells by various Toll-like receptor ligands. Frontiers in Immunology Research 2012 International Conference. Jul 1-4, 2012, Salzburg, Austria
4. Miyawaki T, Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Nonoyama S, Ariga T, M Bexon, M Rojavin, Kobayashi M, Hara T: Efficacy and safety of Hizentra®, a subcutaneous immune globulin, in Japanese patients with primary immunodeficiency diseases. 15th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies. Oct 3-6, 2012, Florence, Italy
5. 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. The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research. May 17-19, 2012, Seoul, Korea
6. Akira Shiraishi, Shouichi Ohga, Takehiko Doi, Masataka Ishimura, Tomohito Takimoto, Hidetoshi Takada, Toshihiro Miyamoto, Yasunobu Abe, Toshiro Hara: Treatment outcomes of Epstein Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in a single institution. The 8th Asian Society for Pediatric Research. May 17-19, 2012, Seoul, Korea
7. Ishimura M, Muneuchi J, Takada H, Hoshina T, Ikeda K, Ohga S, Hara T: Incomplete Kawasaki disease with coronary artery aneurism in a patient with chronic granulomatous disease. The 10th International Kawasaki Disease Symposium. Feb 7-10, 2012, Kyoto, Japan
8. Ishimura M, Mizuno Y, Takada H, Goto M, Doi T, Hoshina T, Ohga S, Hara T: An Early and Non-invasive Diagnostic Method for Histiocytic Necrotizing Lymphadenitis. The 8th Congress of Asian Society for Pediatric Research (ASPR). May 17-19, 2012, Seoul, Korea
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
なし。

次世代シーケンシングによる高 IgE 症候群の予後予測判定因子の発見

研究分担者 小原 収

(独)理研免疫・アレルギー科学総合研究センター、免疫ゲノミクス研究グループ

研究要旨

本研究では、先天性免疫不全症候群の中でも、高 IgE 症候群に特に焦点を当て、その疾患群の予後予測判定因子の同定を行い、本疾患の病態を解析する。それによって、単一遺伝子の異常によって生じる多様な病態の発症機序を探り、骨粗鬆症、アトピー性皮膚炎、高 IgE 血症などの新規の診断法、治療法とケア、予後予測に結びつけることを目指す。特にこの分担研究では、高 IgE 血症の臨床検体の血球のゲノミクス解析により、各症例における遺伝的変異情報と血球での遺伝子発現動態を解析することを目的とした。本年度は、このための基盤整備として、次世代シーケンシングによる病態解析のアプローチとして主として RNA シーケンシング解析を進め、その有効性を確認するとともに、ゲノム構造解析との比較の上でその問題点を抽出した。

A. 研究目的

本研究では、先天性免疫不全症候群の中でも、高 IgE 症候群に特に焦点を当て、その疾患群の予後予測判定因子の同定することを目的とする。さらに、もう一つの目的は、本疾患の病態を解析することによって、単一遺伝子の異常によって骨粗鬆症、アトピー性皮膚炎、高 IgE 血症、背嚢胞などの多様な病態の発症機序を探ることにある。最終的に、これらの解析によって、骨粗鬆症、アトピー性皮膚炎、高 IgE 血症の新規の診断法、治療法とケア、予後予測に結びつけることを目指す。特にこの分担研究では、高 IgE 症候群の臨床検体の血球のゲノミクス解析により、各症例における遺伝的変異情報と血球での遺伝子発現動態を解析する。

B. 研究方法

次世代シーケンシングに依拠した血球細胞発現解析として、RNAシーケンシング系を立ち上げ、発現情報とともに血球細胞中の polyA+ RNAの配列情報も解析できる系を立ち上げる。

全エクソンシーケンシングの情報解析パイ

プラインを稼働させ、上記の転写産物情報と相互に参照しながら遺伝子変異の影響を検討できる系を確立する。

(倫理面への配慮)

本研究のために、理化学研究所において既に承認を受けていた先天性免疫不全症原因探索のための倫理申請に、1) 徳島大学の施設追加、2) 次世代シーケンサーによる網羅的疾患原因探索の実施、の2点の追加の修正申請を行い、平成24

年12月26日付で承認を得た。

C. 研究結果

本研究を実施するため、理化学研究所免疫・アレルギー科学総合研究センターに新たにイルミナ社 HiSeq1000 を導入し、ライブラリー構築の実験系から後のデータ解析までのバイオインフォマティクス系のパイプライン構築までを行った。更に、本研究班での臨床検体分析のための倫理審査が終了するまでの間、市販ヒト検体を用いて、特に白血球分画、単核球分画、造血・免疫系分画細胞についての RNA シーケンシングを実施し、臨床検体での解析のためのリフ