

201324006A (別冊有)

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 原 寿郎

平成26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

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

平成25年度総括・分担研究報告書

研究代表者 原 寿郎

平成26年3月

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

目 次

I	班員・研究協力者名簿	3
II	総括研究報告	7
	原 寿郎	
	九州大学大学院医学研究院成長発達医学 教授	
III	分担研究報告	
1.	原発性免疫不全症候群に関する調査研究	21
	小原 收	
	公益財団法人かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部	
2.	PIDJ データベースに今年度登録された原発性免疫不全症患者 538 例の疫学的解析 および 10 カラーFACS を用いたリンパ球表面抗原分析法の開発について	26
	今井耕輔	
	東京医科歯科大学大学院小児・周産期地域医療学講座	
3.	タンデムマスを用いたアデノシン・デアミナーゼ欠損症に対するマスキリーニングの確立	30
	小野寺雅史	
	国立成育医療研究センター研究所成育遺伝研究部	
4.	Whole exome sequence により本邦初の RTEL1 変異を同定した Hoyeraal-Hreidarsson 症候群	34
	石村匡崇 ¹⁾ 、土居岳彦 ¹⁾ 、高田英俊 ¹⁾ 、瀧本智仁 ¹⁾ 、山元裕之 ¹⁾ 、吉田健一 ³⁾ 、 小川誠司 ³⁾⁴⁾ 、小島勢二 ⁵⁾ 、大賀正一 ¹⁾²⁾ 、原 寿郎 ¹⁾	
	1) 九州大学大学院医学研究院成長発達医学	
	2) 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学	
	3) 東京大学病院 Cancer Board	
	4) 京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学	
	5) 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学	
5.	Exome 解析による原発性免疫不全症候群の原因遺伝子の同定と機能解析	36
	野々山恵章	
	防衛医科大学校医学研究科小児科学	
6.	疾患特異的 iPS 細胞を用いた先天性免疫不全症の病態解析	40
	中畑龍俊	
	京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門疾患再現研究分野	
7.	免疫不全症の QOL 調査、移植法開発	45
	小島勢二 ¹⁾ 、村松秀城 ²⁾	
	1) 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学	
	2) 名古屋大学医学部附属病院小児科	

8. 高 IgE 症候群におけるアトピー性皮膚炎の発症機構の解明・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 48
 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
9. STAT1 機能獲得性変異による CMCD 患者の迅速診断法の確立・・・・・・・・・・・・・・・・ 51
 岡田 賢、溝口洋子、津村弥来、平田 修、小林正夫
 広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学
10. 原発性免疫不全症に関する調査研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 56
 森尾友宏、高島健浩、満生紀子、中谷夏織
 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学
11. 分類不能型免疫不全症における遺伝子・分子病態解析・・・・・・・・・・・・・・・・ 60
 加藤善一郎
 岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学
12. *PCFT (SLC46A1)* 新規変異による遺伝性葉酸吸収不全症 (HFM) の解析・・・・・・・・ 64
 山田雅文¹⁾、千田奈津子¹⁾、有賀 正¹⁾、岸本健治²⁾、小林良二²⁾、小林邦彦²⁾、小原 収³⁾
 1) 北海道大学大学院医学研究科小児科学
 2) 札幌北榆病院小児科
 3) 公益財団法人かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部
13. 家族性血球貪食性リンパ組織球症 3 型の迅速診断法に関する検討・・・・・・・・ 69
 八角高裕¹⁾、堀 雅之¹⁾、西小森隆太¹⁾、小原 収²⁾³⁾、平家俊男¹⁾
 1) 京都大学大学院医学研究科発達小児科学
 2) 公益財団法人かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部
 3) 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
14. XIAP 欠損症における血清 IL-18 の持続的高値・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 73
 和田泰三¹⁾、金兼弘和²⁾、東馬智子¹⁾、谷内江昭宏¹⁾
 1) 金沢大学大学院医歯薬保健学総合研究科小児科
 2) 富山大学大学院医学薬学研究部小児科学
15. 女児例を含む X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) タイプ 2 (XIAP 欠損症) の同胞例に関する研究・・・・ 77
 金兼弘和¹⁾、楊 曦¹⁾、國津智彬²⁾、池田勇八²⁾、多賀 崇²⁾、八角高裕³⁾、平家俊男³⁾、和田泰三⁴⁾、
 谷内江昭宏⁴⁾、三宅邦夫⁵⁾、久保田健夫⁵⁾、村松秀城⁶⁾、小島勢二⁶⁾、吉田健一⁷⁾、小川誠司⁷⁾
 1) 富山大学大学院医学薬学研究部小児科学
 2) 滋賀医科大学小児科
 3) 京都大学大学院医学研究科発達小児科学
 4) 金沢大学大学院医歯薬保健学総合研究科小児科
 5) 山梨大学医学部環境衛生遺伝医学
 6) 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学
 7) 京都大学医学部腫瘍生物学

16. T細胞受容体シグナル伝達系における WASP 蛋白分解機構とその機能的意義・・・・・・・・・・ 80
笹原洋二
東北大学大学院医学系研究科小児病態学
17. 不明熱と免疫不全（サイトカインパターンからの考察）・・・・・・・・・・ 84
布井博幸¹⁾、西村豊樹¹⁾、水上智之²⁾
1) 宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学
2) 国立病院機構熊本医療センター
18. NLRP3 インフラマソームの細胞内再構成による機能解析・・・・・・・・・・ 89
河野 肇
帝京大学医学部内科学講座

参考資料

- IV 研究成果の刊行に関する一覧・・・・・・・・・・ 123

I 班員・研究協力者名簿

原発性免疫不全症候群に関する調査研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	原 寿郎	九州大学大学院医学研究院成長発達医学	教 授
研究分担者	有賀 正	北海道大学大学院医学研究科小児科学	教 授
	野々山恵章	防衛医科大学校医学研究科小児科学	教 授
	森尾 友宏	東京医科歯科大学大学院発達病態小児科学	准教授
	今井 耕輔	東京医科歯科大学大学院小児・周産期地域医療学	寄付講座准教授
	小島 勢二	名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学	教 授
	谷内江昭宏	金沢大学大学院医学系研究科血管発生発達病態学	教 授
	平家 俊男	京都大学大学院医学研究科小児科学	教 授
	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
	布井 博幸	宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学	教 授
	中畑 龍俊	京都大学iPS細胞研究所臨床応用研究部門疾患再現研究分野	特定拠点教授
	峯岸 克行	徳島大学疾患プロテオーム研究センター病態プロテオーム分野	教 授
	小野寺雅史	国立成育医療センター研究所成育遺伝研究部	部 長
	金兼 弘和	富山大学大学院医学薬学研究部小児科学	講 師
	加藤善一郎	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学	臨床教授
	笹原 洋二	東北大学大学院医学系研究科小児病態学	講 師
河野 肇	帝京大学医学部内科学講座	准教授	
小原 収	公益財団法人かずさDNA研究所ヒトゲノム研究部	副所長	
研究協力者	竹森 利忠	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記憶研究グループ	グループディレクター
	石川 文彦	理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センターヒト疾患モデル研究ユニット	ユニットリーダー
	岩田 力	東京家政大学家政学部児童学科	教 授
	赤城 邦彦	神奈川県立こども医療センター	母子保健室長
	大石 勉	埼玉県立小児医療センター	保健発達部長
	久間木 悟	仙台医療センター小児科	医 長
	河合 利尚	国立成育医療センター研究所遺伝子診断治療研究室	室 長
小林 法元	信州大学医学部小児医学講座	助 教	
事務局	高田 英俊	九州大学大学院医学研究院成長発達医学 〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 T E L 092-642-5421 F A X 092-642-5435 e-mail takadah@pediatr.med.kyushu-u.ac.jp	准教授
経理事務担当者	藪口 剛士	九州大学医系学部等財務課経理第一係 〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 T E L 092-642-6006 F A X 092-642-6022 e-mail ijzkeiril@jimu.kyushu-u.ac.jp	係 長

Ⅱ 総括研究報告

総括研究報告

原発性免疫不全症候群に関する調査研究

研究代表者 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

原発性免疫不全症候群の患者 QOL と医療水準の向上に貢献するため以下の研究を重点的に行った。

(1) 全国調査

STAT1 機能獲得型変異による慢性皮膚粘膜カンジダ症（CMCD）患者の臨床像を検討した結果、カンジダ症以外に、細菌感染症や反復性ヘルペス感染症などのウイルス感染症、自己免疫疾患、細胞性免疫不全などの多彩な臨床像を呈することを明らかにした。

(2) 新規診断法、迅速診断法の開発

CMCD の迅速診断法、タンデムマスをを用いた ADA 欠損症の新しいスクリーニング法を開発した。造血幹細胞移植後の免疫不全状態で問題となる接合菌感染症の新たな診断法として、PCR をを用いた血清診断法を確立した。FHL の診断で、NK 細胞や CTL の脱顆粒機能解析、蛋白発現解析の有用性を明らかにした。原発性免疫不全症候群の免疫能評価方法として 10 カラー-FACS による解析法を樹立した。

(3) Primary Immunodeficiency Database in Japan プロジェクトへの登録、遺伝子解析

国内の原発性免疫不全症候群患者の on line 登録、診断や治療に関する相談受付、遺伝子解析を、理化学研究所、かずさ DNA 研究所と共同で継続している。本年度は 531 例が登録された。遺伝子診断法として、次世代シーケンサーを用いたパネル化遺伝子検査法を確立し、導入した。

(4) 責任遺伝子の同定や病態の解明

細網異形成症患者由来 iPS 細胞を樹立し、その代謝プロファイルと血球分化能を解析した結果、ピルビン酸から TCA サイクルへの流入パターンの異常を明らかにした。高 IgE 症候群のマウスモデルにハプテン反復塗布を行う事で皮膚炎を再現し、その病態を明らかにした。抗体産生不全症患者 10 名で、*PIK3CD* 遺伝子の機能獲得型変異を同定し、CVID の新たな責任遺伝子であることを解明した。エキソーム解析によって、国内初の *RTEL1* 遺伝子変異による Hoyeraal-Hreidarsson 症候群、新規 *SLC46A1* 変異による重症複合免疫不全症を伴う先天性葉酸吸収不全、*IL2RG* 遺伝子変異による非典型的な病像を呈した複合免疫不全症等を同定し、病態解析を行った。また、TCR シグナル伝達系における WASP の機能を明らかにした。CAPS 患者にみられる *NLRP3* 変異によって、ASC 蛋白の Speckle 形成がおこる事を明らかにし、病態解明や診断に有用であることを明らかにした。XIAP 欠損症において血清 IL-18 が持続的に高値であり、病態の特徴であることを明らかにした。ヘテロ遺伝子変異によって女性に発症した XIAP 欠損症患者を初めて同定した。

(5) 新規治療法の開発

CD40 リガンド異常による高 IgM 症候群に対する造血幹細胞移植療法の後方視的検討を行い、最適な造血幹細胞移植法を提示した。これまでの造血幹細胞移植成績を評価し、最適な造血幹細胞移植法や遺伝子治療について ESID など海外の情報を継続して収集した。

(6) 患者家族や医療者への継続的情報提供

患者や主治医の登録は継続して on line で行い、最新の情報を研究会、ホームページなどで医師、患者家族に提供している。また患者家族会との連携を深め、講演会・相談会を実施した。

研究者分担者

有賀 正・北海道大学大学院医学研究科小児科学教授
野々山恵章・防衛医科大学校医学研究科小児科学教授
森尾 友宏・東京医科歯科大学大学院発達病態小児科学准教授
今井 耕輔・東京医科歯科大学大学院小児・周産期地域医療学准教授
小島 勢二・名古屋大学大学院発育・加齢医学講座小児科学教授
谷内江昭宏・金沢大学大学院医学系研究科血管発生発達病態学教授
平家 俊男・京都大学大学院医学研究科小児科学教授
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
布井 博幸・宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科学教授
中畑 龍俊・京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門疾患再現研究分野教授
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
小野寺雅史・国立成育医療センター研究所成育遺伝研究部部長
金兼 弘和・富山大学大学院医学薬学研究部小児科学講師
加藤善一郎・岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学臨床教授
笹原 洋二・東北大学大学院医学系研究科小児病態学講師
河野 肇・帝京大学医学部内科学講座准教授
小原 収・公益財団法人かずさ DNA 研究所ヒトゲノム研究部副所長

研究協力者

竹森 利忠・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記憶研究グループグループディレクター
石川 文彦・理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センターヒト疾患モデル研究ユニットユニットリーダー
岩田 力・東京家政大学家政学部児童学科教授
赤城 邦彦・神奈川県立こども医療センター母子保健室長
大石 勉・埼玉県立小児医療センター保健発達部長
久間木 悟・仙台医療センター小児科医長
河合 利尚・国立成育医療センター研究所遺伝子診断治療研究室室長
小林 法元・信州大学医学部小児医学講座助教

A. 研究の目的

原発性免疫不全症候群には多くの疾患が含まれ、専門医が不足し適切な医療を受けられない場合がある。本研究班は、on line での患者登録などによる患者実態の把握、診断や治療に関する患者や主治医からの相談に対する専門的情報提供、診断スクリーニング法の開発や遺伝子解析システムの整備、最新の分子遺伝学的・免疫学的手法を駆使した病因・病態解析、治療ガイドラインの作成、治療法の改良、遺伝子治療を含めた新規治療法の開発等を介して原発性免疫不全症候群患者の QOL と医療水準の向上に貢献することを目的としている。

平成 20 年度に行った全国疫学調査や疾患別に行った国内調査については、臨床経過を詳細に検討し、国内症例の臨床的特徴、遺伝的背景、診断や治療における問題点、合併症などについて検討し、診療の改善につなげ、日常生活を行うことによって、合併症を予防し QOL を向上させる。

原発性免疫不全症候群は、患者の長期的予後や QOL のためにも早期診断が重要であり、多くの疾患で各々の疾患の病態を基盤とした迅速診断が可能となるよう研究を継続する。また乾燥濾紙血（ガスリー血）中の TRECs 測定による重症複合型免疫不全症のスクリーニングは極めて実用的であり、海外では実際に全新生児を対象として行われている地域もある。具体的に一部の地域でこの新生児スクリーニングを実施できるよう整備していく。KRECs 測定による無 γ グロブリン血症の新生児スクリーニング法も臨床応用をめざす。

原因や病態を解明することは、本研究の重要なテーマである。エキソーム解析では技術的な進歩を背景として、解析精度が上昇しており、積極的に活用していく。分子遺伝学的解析に加えてヒト化マウスを用いて、候補遺伝子の機能的な解析を in vivo で行う。ヒトの疾患から明らかになったことを基盤として、そのノックインマウスやヒト化マウスを作成し、病態解明に活用する。また、iPS 細胞を作成して病

態解析を行い、治療への応用に向けた研究を行うとともに、病態を基盤とした創薬研究を行う。

造血幹細胞移植については、既に作成した 4 疾患の造血幹細胞移植治療ガイドラインの成績調査を継続し、移植法の改良や適応拡大を目的として、移植成績に関する情報を収集し解析を行う。他の疾患についても治療ガイドラインを作成し公開していく。

新規治療法の開発では、遺伝子修復法、タンパク治療法、iPS 細胞を用いた遺伝子治療に関し基礎研究を行う。重症複合免疫不全症への遺伝子治療は安全性、有効性が明らかになりつつあり、造血幹細胞移植が困難なドナーのいない患者、感染を合併した患者に対する治療として、遺伝子治療の臨床研究を推進するための準備を行う。

患者家族会と交流し患者家族への教育を行い、主治医との on line での相談受付や情報提供をこれまで同様継続する。

B. 研究方法

本調査研究では、以下の重点目標を掲げ、国際的動向や国内でのこれまでの調査結果に基づいて、我が国の背景をふまえた研究を行い、患者・家族へ最善の治療の提供し、QOL の向上に寄与したい。

1. 疫学調査研究：全国疫学調査結果の解析を継続し、種々の観点から解析し、生活習慣や治療方針と治療成績や合併症との関連などを解析する。また各疾患の専門施設で全国規模の調査を行い、臨床像の特徴、遺伝的背景などについての解析を行う。またホームページによる患者二次登録を推進し、IT を活用したデータベースの構築を推進する。
2. 新規診断法、迅速診断法の開発：これまで各疾患の専門施設が病態の特徴を利用した簡易スクリーニング法を開発してきた。フローサイトメーター、定量的 PCR 法等を駆使し、蛋白機能の定量的評価法など新たな方法を開発して、迅速診断法をさらに開発する。TREC/KREC 測定による新生児マススクリーニングについては、実施後に予想される問題点な

どを再検討し、実際に応用できるように行政との調整を行う。

3. Primary Immunodeficiency Database in Japan

(PIDJ) プロジェクトへの登録、遺伝子解析：

遺伝子解析は、当班研究の班員施設を介して on line で遺伝子解析依頼を受け付け、理化学研究所およびかずさ DNA 研究所で行う。また、細胞の蛋白発現についての解析も理化学研究所で行う。多くの種類の遺伝子解析を、多数、迅速に行う必要があり、次世代シーケンサーなどを用いて、ニーズに対応できる新たな方法を確立していく。

4. 責任遺伝子、発症機構、病態の解明：これまで高 IgE 症候群や慢性皮膚粘膜カンジダ症などについて責任遺伝子を同定してきた。今後は、エキソーム解析や RNA Seq 法などを駆使した解析から新たな責任遺伝子を同定していく必要があると考えられる。その結果得られた候補遺伝子については、分子遺伝学的な解析に加えて、iPS 細胞やヒト化マウスの技術を取り入れた機能・病態解析を行う。

5. 治療ガイドラインの作成と新規治療法の改良・開発：これまで、重症複合免疫不全症、CGD、Wiskott-Aldrich 症候群、高 IgM 症候群に対する造血幹細胞移植ガイドライン、慢性肉芽腫症における BCG 感染症治療ガイドラインを作成しホームページに掲載した。このガイドラインの評価を継続して蓄積し、改良点を模索する。これ以外の疾患についても、実際の診療上の具体的な問題について治療法や対策法を提示していく。造血幹細胞移植前後の合併症、特に、高感度の感染症迅速診断法についても、開発研究を行う。

遺伝子治療研究では、安全性の高い新規ベクターと iPS 細胞やヒト化マウス疾患モデルを用いて、その有効性や安全性を確認する。遺伝子治療については、海外でベクターの改良が進んでおり、国内外の情報を集め、具体的な実用化に向けた研究を継続する。

6. 患者 QOL 調査と患者家族や医療者への継続的情報提供体制：原発性免疫不全症候群の患者家族向け

概説書を作製し既に配布し、またホームページにも掲載した。新たな情報があれば適宜修正する。診断基準、専門病院、遺伝子検査を行う施設、治療ガイドラインなどの情報についてもホームページに掲載し、最新の情報に更新する。患者家族会との講演会や相談会を実施する。Jeffrey Modell Foundationなどを参考に、患者家族への情報発信を目的とした World Primary Immunodeficiency Week に患者家族とともに参加するなど国際的な情報を基に、患者への情報提供に取り組む。

(倫理面への配慮)

本調査研究に必要とされる患者試料を得るにあたっては、各研究者の所属する機関の倫理委員会の承認を得ている。患者試料の採取に当たっては、遺伝子解析その他の医学研究に供すること、結果は本人が特定できるような形では公表しない事など、患者・代諾者の理解を求め、経緯を書面に残している。ES 細胞や iPS 細胞の取り扱いについては該当するガイドラインに沿い、資料提供者に十分な説明をした上で、書面で同意を得て行う。

C. 研究結果と考察

1. 全国調査の解析結果

近年、我々は、慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCD) の原因として *STAT1* 遺伝子異常 (機能獲得型変異) を明らかにした。今回、*STAT1* 遺伝子異常による国内の CMCD 患者の臨床像、遺伝的背景を明らかにするために、15 例 (男性 9 例、女性 6 例) の国内患者を解析した。診断時の年齢は、0 歳 2 か月～45 歳 (中央値 13 歳) であった。家族例は 4 家系 8 例であり、7 例が孤発例であった。全例で乳児期から反復する皮膚粘膜真菌症を認めた。反復性肺炎を 6 例に、pneumocystis 肺炎を 2 例に、cryptococcus 感染症を 2 例に認めた。合併症としては、気管支拡張症 4 例、血球貪食症候群 1 例、甲状腺機能低下症 3 例、巨赤芽球性貧血 1 例、1 型糖尿病 1 例、多発性動脈瘤 1 例が認められた。遺伝子変異は全例がヘテロ接合型ミスセンス変異であり、10 例が coiled-coil domain

に、5例が DNA binding domain に変異が認められた。

さらに国内外の症例について共同研究を行い、質問紙表による調査を行った。患者は 181 名（家族例が 122 例 57 家系、孤発例 59 例）であり、男性 89 名、女性 92 名であった。変異は 66%が coiled-coil domain (CCD) に認められ、29%は DNA-binding domain (DBD) に認められた。CMCD 以外の感染症として、83%の患者で細菌感染症（反復する中耳炎、副鼻腔炎、下気道感染症、皮膚感染症など）が認められ、44%の患者でウイルス感染症（反復性の HSV 感染症、重症水痘、帯状疱疹、CMV 感染症、EBV 感染症など）が認められた。他の症状としては、25%に甲状腺機能異常（うち 39%の患者で抗甲状腺抗体陽性）を認めたほか、6名で自己免疫性肝炎、3名に糖尿病、3名に乾癬、1名に SLE を認めた。患者の 6%で頭蓋内動脈瘤を認めたが、多くは多発性動脈瘤であった。調査時に 9 名が死亡しており、死亡時の平均年齢は 30 歳であった。血液検査では、39%の患者でリンパ球減少を、27%で NK 細胞数の減少を認めた。免疫グロブリン値は概ね正常であったが、IgG2 低下を 37%に、IgG4 低下を 47%に認めた。このように、*STAT1* 遺伝子異常による CMCD の臨床像は、これまで考えられていたものよりも多彩であることがわかった。

2. 新規診断法、迅速診断法の開発

(1). タンデムマスを用いたアデノシンデアミナーゼ欠損症のマススクリーニング法の開発

アデノシン・デアミナーゼ (ADA) は核酸代謝産物のデオキシアデノシンをデオキシイノシンに転換する核酸代謝酵素で、この酵素が欠損することで重症複合免疫不全症 (SCID) を発症する。ただ、遺伝子変異によっては微量ながらも ADA 活性を認め、この場合、通常の SCID スクリーニングで測定される環状 DNA (TREC) が検出することもある。新生児マススクリーニングで採取されたろ紙血中の ADA 活性を測定するため、ろ紙血 1 パンチより 5mM 酢酸アンモニウムにてタンパク成分を抽出し、基質で

あるアデノシンと混合させた後一定時間反応させ、反応産物のイノシン量を質量分析装置 (LCMA-8030) で定量した。健常人では一定時間内に反応産物のイノシンを検出したが、対照とした ADA 欠損症患者ではその反応産物を検出することができなかった。今後は測定時間等を短縮することで新生児スクリーニングとしての同系の導入を成育医療研究センター内で検討している。

(2). *STAT1* 機能獲得型変異による CMCD 患者の迅速診断法の開発

慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCD) は、皮膚・爪・口腔粘膜・外性器を主病変とした、反復性または持続性の *C. albicans* 感染を臨床的特徴とする。2011 年に、*STAT1* の機能獲得型変異により CMCD が発症すること明らかにしたが、その後の検討で CMCD 患者の約 40-50%で同変異が同定されることが明らかとなるとともに、本邦でも多数の *STAT1* 機能獲得型変異による CMCD 患者が同定されている。今回、*STAT1* の機能獲得型変異を有する患者の末梢血単核球を用いて、フローサイトメーターによる迅速診断法を開発した。健常者および患者末梢血を IFN- γ で 15 分間刺激し、その後さらに protein kinase inhibitor である staurosporine 処理を行った後に、細胞内のリン酸化 STAT3 蛋白を染色しフローサイトメーターで解析した結果、すべての患者で、健常者よりリン酸化 STAT3 の発現が高く、迅速診断に有用であることが明らかになった。

(3). 家族性血球貪食性リンパ組織球症 3 型の迅速診断法の確立

本邦の家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL) 症例の殆どを 2 型 (FHL2) と 3 型 (FHL3) が占めるが、perforin 発現解析による FHL2 スクリーニング法が確立しているのに対し、FHL3 に対するスクリーニング法は十分に確立されているとは言い難い。これまで、NK 細胞脱顆粒機能解析と Munc13-4 蛋白発現解析を用いて FHL3 スクリーニングを行って来たが、NK 脱顆粒機能は 2 次性 HLH 症例でも一過性に低下している場合があり、逆に FHL3 症例でも

比較的残存している場合があり、感度・特異度も低い事が問題である。また、FHL3 診断における Munc13-4 蛋白発現解析の有効性についても十分に評価されていない。これらの問題を解決するため、FHL3 症例の迅速診断における NK 細胞/CTL を用いた脱顆粒機能解析の有用性と、*UNC13D* ミスセンス変異による FHL3 症例の診断における Munc13-4 蛋白発現解析の有用性を検討した。脱顆粒能解析では、CD57+CD3+CD8+分画 (CTL) を用いた解析は、NK 細胞を用いた脱顆粒機能解析に比較して感度・特異度も高く、FHL3 の機能スクリーニングとして優れている事が判明した。更に、これまで FHL3 として報告されている *UNC13D* ミスセンス変異のほぼ全てで Munc13-4 蛋白発現低下を来すことが確認された。以上の結果より、CD57+CTL を用いた脱顆粒機能解析と Munc13-4 蛋白発現解析の組み合わせは、FHL3 の迅速スクリーニング法として非常に有用であることが示された。

(4). 免疫担当細胞の 10 カラー解析

フローサイトメーターによる免疫担当細胞の表面マーカー解析は、診断に極めて有効である。例えば、高 IgE 症候群では Th17 細胞の減少がみられ、ICOS 欠損症で Tfh 細胞が減少し、*PIK3CD* 遺伝子異常では、transitional B 細胞が増加する等である。今回、この解析を効率よく解析するため、10 カラーによる解析法を確立した。血液 1ml で、蛍光色素を組み合わせ、効率よく解析可能となった。

3. Primary Immunodeficiency Database in Japan

(PIDJ) プロジェクトへの登録、遺伝子解析患者登録は PIDJ のネットワークを用いて行っており、診断に必要な遺伝子解析や生体試料の保存を理化学研究所、かずさ DNA 研究所と共同して行っている。全国から多数の症例が集積され、平成 25 年は 531 例が登録された。PIDJ 発足以降平成 25 年末現在で、2847 例が登録されている (参考資料 1)。これは、人口 10 万人あたり、2.37 例であり、依然欧州諸国と比べ約半数にとどまっている。疾患分類別では、自己炎症疾患が 187 例 (34.8%) と最多であ

り、自己炎症疾患を含まない欧州免疫不全症学会疾患登録とは異なっている。次に多いのが抗体産生不全症であり、85 例 (15.8%) を占めていた。免疫不全症を呈する症候群が 63 例 (11.7%) と続き、分類不能例が 56 例 (10.4%)、貪食細胞異常症 53 例 (9.9%)、免疫調節異常症 37 例 (6.9%) 自然免疫不全 26 例 (4.8%)、複合免疫不全症 24 例 (4.5%) となっていた。

平成 25 年、PIDJ では 664 件の遺伝子解析を行った。現在の限られた数の遺伝子のターゲット解析ではこれまでと同様に最終診断に至れた割合は 30%を下回った。こうした遺伝子解析ニーズの増大と安定した遺伝子解析実現のために、次世代シーケンサーを用いた高精度遺伝子変異解析法を利用したパイプラインを構築した。これを利用して、各症候群に特徴的な既知原因遺伝子解析パネルを設定し、卓上型次世代シーケンサー (ロシュ社、GS Junior) を用いて一度に 10 遺伝子程度の配列解析を実現する解析パイプラインを実現した。従来の基本的な方法であるキャピラリー-DNA シーケンシング法と今回の次世代シーケンサーを用いた方法の精度を比較するために、両者でのべ 500kbp を超える配列データを取得・比較した。その結果、次世代シーケンサーによる方法が精度においても従来のキャピラリーシーケンシング法と同等もしくはそれ以上の性能を有していることを見出した。さらに、こうして既知遺伝子の変異の可能性が除外された症例について、次世代シーケンサー (イルミナ社 HiSeq1500 及び 2000 を新規に調達) を用いた網羅的な全エクソン解析を実施した。更に、臨床検体の血球成分からの RNA Sequencing による解析も進め、エクソン領域の解析だけでは不十分な場合に備えた。これらの解析によって、複数の症例において疾患原因と考えられる候補変異の同定に至った。

4. 責任遺伝子の同定や病態の解明

(1). ヒト iPS 細胞からの血球分化系れを用いた原発性免疫不全症候群の病態解析、創薬研究

先天性免疫不全症の病因解明、病態解析のため、疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解析系の構築に取り組んでいる。今回、血球分化系の改善として、従来開発している二次元の無血清、フィーダー細胞を用いない血球分化法を拡張し、新たなスキャフォールドを用いた 3 次元培養法を確立した。PET 線維で補強したコラーゲンスポンジを基材として用いることにより、従来の血球系より長期間の培養が可能になり、またニッシュ細胞を 3 次元構築することが可能になった。この系で単球系細胞や顆粒球系細胞の大量培養が可能になると期待される。

また、各種免疫不全症の疾患 iPS 細胞を樹立し、疾患の病態解析を継続している。AK2 変異を持つ細網異形成症患者 2 例より iPS 細胞を樹立して解析を行ったところ、好中球の成熟障害と T 細胞分化不全を認め、血球分化不全の再現に成功した。細網異形成症の原因分子である AK2 タンパクは、ミトコンドリア膜間隙に存在し、 $ATP-Mg^{2+} + AMP \rightleftharpoons ADP-Mg^{2+} + ADP$ という可逆性の反応を食材するキナーゼであり、細胞内のエネルギー状態をモニタリング・調節しているとされる。さらに、AK2 タンパクはアポトーシスにも関連するという報告があり、このような重要な分子の異常細胞からの iPS 細胞樹立は予想以上に困難であった。しかし、レンチウイルスベクターにて AK2 を過剰発現させた後に、リプログラミング因子を導入することによって、世界で初めて細網異形成症患者由来の iPS 細胞樹立に成功した。患者由来 iPS 細胞は、好中球の成熟障害と T 細胞分化不全を認め、血球分化不全の再現に成功した。さらに、その代謝プロファイルと血球分化能を解析した結果、ピルビン酸から TCA サイクルへの流入パターンの異常を明らかにした。

細網異形成症由来 T リンパ球の分化実験では、ヒト iPS 細胞を用いることにより、T 細胞免疫不全症の分化障害のステージの特定が可能であることが示された。原発性免疫不全症の解析に置いて、iPS 細胞の有用性は高いものと考えられる。

(2). エキソーム解析等による責任遺伝子の同定

理化学研究所、かずさ DNA 研究所では、責任遺伝子の同定に向けた方法として、エキソーム解析と並行して、血球成分の全 RNA 解析を次世代シーケンサーを用いて開始した。

これまでエキソーム解析によって慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCD) の責任遺伝子 *STAT1* (signal transducer and activator of transcription-1) を同定し、さらに成人発症の B 細胞単独欠損症における *FANCE* 遺伝子 (Fanconi 貧血の疾患原因遺伝子の一つ) 変異などを明らかにしてきた。今回、分類不能型免疫不全症 (CVID) 患者のエキソーム解析の結果、*BTK* 遺伝子変異、*STAT1* 遺伝子変異、*FANCA* 遺伝子変異 (Fanconi 貧血の責任遺伝子の一つ) 認め、既知の疾患の非典型例であることを明らかにした。

さらに、B 細胞、樹状細胞、NK 細胞が欠損する患者のエキソーム解析により、その原因が *GATA2* 遺伝子異常であることを明らかにした。さらに、国内の *GATA2* 欠損症を 14 例集積し、その臨床像を解析した結果、水痘やサルモネラ感染症の重症化、真菌感染症、非定型抗酸菌感染症などを呈することが明らかにし、T 細胞機能の低下を示唆する所見を得た。実際、T 細胞新生能を示す末梢血 TREC の発現が低下していた。そこで、患者骨髓液より CD34 陽性細胞を純化し、OP9-DL1 feeder 細胞上で、IL-7、FLT3、SCF を添加し、29 日から 36 日間培養し、double negative T 前駆細胞、double positive T 前駆細胞に *in vitro* で分化させたところ、*GATA2* 欠損症患者では、これらの細胞に分化しないことを初めて明らかにした。*GATA2* は T 細胞の初期分化、胸腺から抹消への流出、サイトカイン産生細胞への機能的分化に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

原因不明の CVID 患者についてエキソーム解析を行い、ICF 症候群の責任遺伝子である *DNMT3B* 遺伝子異常を明らかにした。即ち、ICF 症候群では、顔貌異常のない場合もあり、原因不明の低ガンマグロブリン血症の場合、ICF 症候群を疑う必要がある

ことが明らかになった。同様に他の CVID の 5 家系についてエクソーム解析を行ったところ、1 例で *LRBA* の compound heterozygotic mutation を確認した。この患者の兄も類似の臨床像を呈していたが、LRBA 欠損症に特徴的な特発性血小板減少による出血にて亡くなっているという家族歴があり、兄も同じ疾患であると考えられた。

エクソーム解析によって、これまで Fanconi 貧血の責任遺伝子である *FANCA* 遺伝子の異常によって、B 細胞単独欠損症等を呈することを明らかにしてきた。そこで、Fanconi 貧血と診断されている 29 例について免疫学的解析を行った。その結果、6 名でリンパ球減少、2 名で B 細胞欠損、3 名で CD4/CD8 日の逆転を認めた。TREC/KREC 解析では、KREC のみ陰性者が 5 名、TREC/KREC ともに陰性者が 2 名存在した。

さらに、CVID を呈していた 8 歳男児についてエクソーム解析を行ったところ、*IL2RG* 遺伝子異常 (c.172C<A) が確認された。患者 T 細胞を PHA/IL-2 で刺激したところ、STAT5 のリン酸化が減弱していた。*IL2RG* 遺伝子に関しては、変異の種類によっては、CVID 様の症状にとどまる可能性があるという事が確認された。このように、原発性免疫不全症では、非典型的な病型であるため、原因が解明できなかった症例について、エクソーム解析によって原因が解明される場合がある。

(3). CVID の責任遺伝子の同定

近年、高 IgM 症候群の新たな責任遺伝子として *PIK3CD* 遺伝子が確認された。そこで、CVID 患者の *PIK3CD* 遺伝子変異の有無を調べたところ、10 名に機能獲得型変異を同定し、CVID の新たな責任遺伝子であることを明らかにした。さらに明らかな家族内発症が認められた CVID 患者について、エクソーム解析を行ったところ *PIK3CD* 遺伝子変異を確認した。

(4). 高 IgE 症候群におけるアトピー性皮膚炎の発症機構の解明

高 IgE 症候群は、アトピー性皮膚炎・血清 IgE の著しい高値と、黄色ブドウ球菌による皮膚膿瘍と肺炎を特徴とする原発性免疫不全症である。その主要な原因が *STAT3* の遺伝子変異であることは明らかになったが、その病態形成機構には依然不明な点が多い。今回我々は、そのアトピー性皮膚炎の発症機構を解明する目的で、STAT3-DN を全身に発現する高 IgE 症候群のモデルマウスを用いて、アトピー性皮膚炎のモデルを作製した。ハプテン反復塗布により皮膚炎を誘導すると、モデルマウスでは、皮膚組織の肥厚、および CD4 陽性 T 細胞と好酸球の皮膚炎局所への浸潤がより増強し、ハプテン特異的血清 IgE、Th1/Th2 サイトカインがより上昇した。卵白アルブミンの塗布による皮膚炎モデルにおいても同様の所見を認めた。これらの皮膚炎モデルは、高 IgE 症候群における皮膚病変の発症機構の解明に有用である可能性が示唆された。

(5). T 細胞受容体シグナル伝達系における WASP 蛋白分解機構とその機能的意義

Wiskott-Aldrich 症候群の原因遺伝子である *WASP* 遺伝子産物は、WASP 結合蛋白質 WIP と複合体を形成して T 細胞受容体 (TCR) シグナル伝達系下流に位置し、T 細胞活性化とアクチン重合化を制御することは知られていたが、WASP 蛋白分解機構とその機能的意義は不明であった。我々は、これまで WIP が WASP 蛋白質安定化に重要であることを明らかにしている。今回、T 細胞受容体シグナル伝達系における WASP 蛋白分解機構とその機能的意義を明らかにする目的で、ヒト T 細胞、293T 細胞、WASP 欠損および Cbl-b 欠損マウスの脾臓 T 細胞を用いて解析を行った。その結果、WASP 蛋白は TCR 刺激後、経時的に Ca 依存性蛋白分解酵素であるカルパインによる断片化と、Cbl ファミリー (Cbl-b、c-Cbl) ユビキチンリガーゼと共沈してユビキチン化を受け、その後 26S プロテアソームによる分解を受けることを明らかにした。また、野生型 T 細胞におけるカルパイン特異的阻害剤の添加と、Cbl-b 欠損マウス T 細胞においてアクチン重合化が有意に増加した。し

かしながら、WASP 欠損マウス T 細胞においてはカルパイン阻害の効果は認めなかった。このことから、T 細胞における WASP 蛋白分解機構は、WASP が活性化された後に、カルパインによる断片化と Cbl ファミリーによるユビキチン化によって蛋白分解を受け、TCR シグナル伝達系においてアクチン重合化を機能的に負に制御していることが明らかとなった。

(6). X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) の病態解析

X 連鎖リンパ増殖症候群 (XLP) タイプ 2 (XIAP 欠損症) は血球貪食性リンパ組織球症(HLH)を特徴とする稀な原発性免疫不全症であり、本来男児のみに発症するが、今回、世界初と考えられる女児例を同定した。症例は 7 歳女児(姉)で、エクソーム解析で原因が同定された非典型的 XLP の経過をとった兄弟の姉である。弟たちと同様に HLH を発症した。遺伝学的には保因者であったが、XIAP 蛋白の発現低下が認められた。正常 *XIAP* 遺伝子アレルの不活化を示す X 染色体の非ランダムな不活化が確認され、女性 XLP2 と診断した。サイトカインプロファイルならびにアポトーシスも XLP2 に特徴的なパターンを示した。本研究によって、女児例であっても HLH を繰り返す病歴や家族歴から原因疾患として XLP も念頭に置く必要があることが示された。

XIAP 欠損症の病態を解明するために、患者血清サイトカインを解析・検討した。対象は XIAP 欠損症 10 例。HLH 急性期と安定期における種々のサイトカインを ELISA により定量した。XIAP 欠損症では、HLH 急性期の IL-18 値が、SAP 欠損症、家族性 HLH、EB ウイルス関連 HLH に比べ極めて高値を示した。治療により IL-6 などの他の炎症性サイトカインが沈静化したあとも、IL-18 の高値は持続した。10 歳以上の患児においても血清 IL-18 は高値であり、長期間の持続高値を示唆していた。以上より、XIAP 欠損症では持続性の血清 IL-18 高値と HLH 罹患時における増悪が特徴であると考えられた。また IL-18 の持続高値が反復性の HLH と関連している可能性が示唆された。

(7). 遺伝性葉酸吸収不全症による複合免疫不全症の解析

遺伝性葉酸吸収不全症 (HFM) は、消化管での葉酸吸収障害と中枢神経系への輸送障害により生後 1 ~ 3 ヶ月頃より巨赤芽球性貧血、易感染性や神経症状を生じる先天性疾患である。常染色体劣性遺伝形式を示し、proton-coupled folate transporter (PCFT) をコードする *SLC46A1* 遺伝子の異常が報告されているが、本邦からは未報告である。今回、臨床的に複合免疫不全症を呈し、葉酸低値から HFM が疑われた患者において *SLC46A1* 解析を行ったところ、母由来で Gly189Val アミノ酸置換を生じるミスセンス変異 c.566G>T と、父由来の deep intronic mutation, c1166-285T>G のヘテロ接合体であることが判明した。後者は exon 3 と exon 4 の間に 168 bp の intron 3 の挿入配列を生じ、挿入配列内で premature termination を来していると考えられた。いずれも発現が著明に低下することによる機能喪失型変異であると考えられた。

(8). NLRP3 インフラマソームの細胞内再構成による機能解析

NLRP3 インフラマソームの機能はクリオピリン関連周期性発熱のみならず、各種感染症、結晶誘発性関節症、死細胞に対する炎症反応、糖尿病や動脈硬化などの慢性炎症性疾患に至るまで広範囲の生体反応において重要な役割を果たすことが明らかとなった。しかしその分子メカニズムについては未だ充分解明されていない。今回、NLRP3 インフラマソームの細胞内再構成による機能的解析を行った。遺伝子導入により、蛍光 (Cerulean) -ASC を安定的に導入した HEK293T 細胞およびマクロファージ細胞株 RAW264.7 を樹立した。RAW264.7 細胞には遺伝子導入を容易とするためレトロウイルスレセプターを発現させた。これらの細胞は導入遺伝子保持のために puromycin の添加下に培養された。画像取得は蛍光顕微鏡にて行い、ImageJ ソフトウェアを用いてその細胞面積、およびインフラマソーム活性の指標である speckle の解析を行った。HEK293T 細胞に

において、NLRP3 の発現によるインフラマソーム speckle の形成、Nigericin 投与による speckle 形成の促進を定量的に再構成する系を構築することができた。クリオピリン関連周期性発熱と関連する機能亢進型 NLRP3 (D303N, H312P, A352V, R260W) においては、野生型 NLRP3 に比較して、speckle の形成の亢進が認められた。他方、NLRP3 インフラマソーム形成阻害に関連することが知られている PYDC2 の共発現においては、speckle 形成の低下が認められた。この方法は、病態解明や診断に有用であると考えられる。

(9). 免疫不全症における血清サイトカイン

免疫異常症患者では不明熱で発症するケースが多い。心因性発熱、菊池病、悪性高熱症候群、マクロファージ活性化症候群 (MAS) を繰り返した若年性関節炎、地中海熱、慢性肉芽腫症と診断した患者の 27 サイトカインパターンについて比較検討した。健康成人のサイトカインは平均値の 3 倍以内に分布した。心因性発熱患者では 26 種類のサイトカインがほぼ健常者平均の 5 倍～10 倍を示した。菊池病、悪性高熱症候群と若年性関節炎患者では他のサイトカインは健常者平均の 5 倍の範囲に収まったのに対し、各々 IP-10、IL-6、IL-6 と IL-18 が健常者平均の 50 倍～500 倍と非常に特徴的なサイトカインパターンを示した。一方、地中海熱や慢性肉芽腫症患者では、特徴的なサイトカインパターンは得られなかったが、サイトカインバランス (IL-6/IL-10 など) の異常が認められた。27 サイトカインパターンを見ると、不明熱患者の病態にかなり特異的なパターンを示す疾患があり、病態を考える上でも重要であると考えられた。

5. 治療ガイドライン作成と新規治療法の開発

(1). 高 IgM 症候群 (XHIM) に対する造血幹細胞移植

CD40 ligand の異常による高 IgM 症候群 (XHIM) に対する造血幹細胞移植療法の後方視的検討を行った。2011 年までに確定診断された国内 45 家系 56 症例を対象とした。56 例の生存期間の中央値は 23 歳

(0.5～43 歳) であり、非移植群 (n=27) と比較して、移植群 (n=29) の生存率は有意に良好であった。29 例の移植症例のうち移植後死亡は 4 例で、移植後 5 年の全生存率は 85.6% であった。移植後のイベント発生は、移植時 6 歳以上の群 (n=15) と比較して、移植時 5 歳以下の群 (n=14) で有意に低かった

($p=0.0263$)。肝硬変や気管支拡張症等の移植前臓器障害は、移植時 6 歳以上の群では 15 例中 5 例に認められたが、移植時 5 歳以下の群には 1 例も認めなかった。XHIM に対する HSCT は有効であり、臓器障害の少ない 5 歳以下での施行が望ましいと考えられた。

(2). 造血幹細胞移植における B 細胞、T 細胞新生能の解析

原発性免疫不全症、血液系悪性腫瘍に対する造血幹細胞移植において、KRECs、TRECcs を測定した。TRECcs、KRECs の早期回復例では感染症が少ない傾向を認めた。一方 KRECs、TRECcs の回復については、レシピエントが若年であることが有利であり、ドナーの年齢は関係ないことが明らかになった。また臍帯血移植でも骨髄移植や末梢血幹細胞移植に劣らない KRECs、TRECcs の回復が明らかになった。他の疾患についても、これまでの造血幹細胞移植成績を評価し、最適な造血幹細胞移植法や遺伝子治療について ESID など海外の情報を継続して収集した。

6. 患者 QOL 調査と患者家族や医療者への継続的情報提供

原発性免疫不全症候群患者の長期的な患者 QOL については現在も継続して調査・研究を行っている。診断基準、迅速診断を行っている施設、確定診断に必要な検査項目、専門病院、遺伝子検査を行う施設名や連絡先などの情報をホームページに掲載し、情報提供を継続している。PIDJ ホームページでは症例の相談を受け付けており、各疾患の専門家が主治医にむけて診断や治療のアドバイスをしている

(<http://pidj.rcai.riken.jp/>)。

また、当研究班で作成した患者・家族のための原発性免疫不全症候群 疾患概説書の内容も pdf で掲載している。

日本免疫不全研究会（参考資料 2：プログラム）を班会議翌日に開催し、担当医師への情報提供、意見交換を行っている。全国疫学調査の際、主治医のメールアドレスの登録を進め、継続的に免疫不全症に関する最新の情報提供を行い、この疾患に対する医療水準を向上させている。患者家族会である PIDJ つばさの会 (<http://npo-pidsubasa.org/>) との連携を深め、講演会や相談会を実施した。

D. 考察

PIDJ ネットワークを通じた症例の紹介および登録は 5 年間恒常的に増加しており、全国で少なくとも 1 日 1.45 例の免疫不全症（疑い例を含む）患者が発生していることが明らかになった。もちろん、このネットワークでカバーされている症例は国内発生症例の一部であると考えられる。諸外国での登録数からは、たとえばフランスでは人口 10 万人あたり 4.4 例であり、日本での現在の登録数は人口 10 万人あたり 2.37 例であるため、他の諸外国（ノルウェー、スペイン、イスラエル、アイルランド、オーストラリアなど）と比べ 1/2 程度の登録数である。今後も国民への周知活動を通して、早期診断、早期治療による患者の予後改善に努めるべきであると考えられる。さらに前述の諸外国のデータは自己炎症性疾患を含んでいないものが多く、日本では 1/3 を自己炎症性疾患（疑い）が占めているため、さらに古典的な免疫不全症が見逃されていると考えられる。今後、遺伝子解析結果と結びつけ、現在行っている予後調査と組み合わせて、日本における原発性免疫不全症の疫学について検討したい。

FACS を用いた原因遺伝子産物の同定が役に立った例も多いが、逆に FACS では正常に染まっていたものの、機能喪失と考えられるアミノ酸置換（ミスセンス変異）を持つ症例もあり、蛋白発現解析と遺伝子解析の両方の必要性、さらには phosflow などを用いた機能解析の必要性が確認された。さらに、近年、deep intron の変異によるものや、片アリの欠失によるものも報告されており、今後、cDNA によ

る変異解析や CNV（copy number variation）を効率よく見出すことができる方法の開発の必要性も示唆された。

種々の疾患の原因解明、病態解析では、エキソーム解析が強力なツールであることが確認された。新たな疾患の責任遺伝子の同定だけでなく、非典型的な臨床像を呈する疾患の原因検索に極めて有効であることも示された。より効率的な遺伝子解析方法として、次世代シーケンサーによるアンプリコンシーケンスを用いた方法と疾患関連遺伝子の exon 部分のみを濃縮するチップの利用も考慮されるべきと考えられた。iPS 細胞による病態解析も、今後幅広く展開されると考えられる。iPS 細胞作製が困難である疾患もあり、その場合、その責任遺伝子の野生型を一過性に強制発現させることで疾患特異的 iPS 細胞を樹立することが可能であることも判明した。

各疾患の病態解明をベースとして、迅速診断法の樹立も進み、幅広く、多くの疾患を網羅していくような努力が必要である。特に重症複合免疫不全症の早期診断・スクリーニングの実施は大きな課題であり、海外の状況に後れを取りつつある。行政からの支援に期待したい。

早期の確実な診断によって、合併症なく、最善の治療を行えるよう、今後とも患者登録、合併症や治療経過日刊するデータ収集を継続していく必要がある。

E. 結論

各項目に記載した内容の通り、平成 25 年度の目標を達成できたものとする。今後とも、原発性免疫不全症候群患者の QOL 向上のために、継続した研究を行いたい。

F. 研究危険情報

なし。

G. 研究発表

巻末に記載のとおり。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

I. 研究危険情報
なし。

J. 知的財産権の出願・登録状況
なし。