

原発性免疫不全症に対する造血幹細胞移植法の確立

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、必要に応じてそれぞれの症例の遺伝子検査結果を対応付けながら閲覧できるような情報基盤に向けた改良を進めた。特に今年度は、こうした遺伝子検査への次世代シーケンサーの導入にも対応できるように 専門臨床医のみにアクセス制限した遺伝子検査情報プラットフォームの改良と運用を開始した。さらに、今後の遺伝子検体数増に対応できるように、遺伝子検査の標準手順書の整備とその下での遺伝子解析データの蓄積を進めた。

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最終的な目的とする。本分担研究では、原発性免疫不全症の症例の遺伝子検査データの蓄積とその症例と解析結果の情報基盤整備を通じて、目的達成に貢献する。

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。
- ・ 蓄積された臨床情報と各疾患の遺伝的な原因の対応をつけるべく、各症例の

既知疾患候補遺伝子の構造解析を進め、そのデータ蓄積を推進する。その作業が適切に行えるように、標準手順書を作成し、それに従ったデータ蓄積を進めた。

(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、承認を得た。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いるかずさ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し、実際の運用を開始した。更に、遺伝子解析を担っているかずさ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継続し、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を運用した。この間に、PIDJに付随するデータベースのセキュリティー上の

脆弱性を解消するために、各ソフトウェアやOSのアップデートを行い、高いセキュリティーを維持した。今年度は、PIDJへの登録件数は年間で500件を突破し、登録数の堅実な増加が続いている。

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。特に、今年度は卓上型次世代シーケンサーによる疾患別のパネル診断も導入し、その結果閲覧も可能なようにデータダウンロードシステムを構築・運用した。

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。これらの問題も、臨床専門医、主治医の皆さんへの呼びかけで大きく改善できた。それによって、当初の目的であった造血幹細胞移植法評価の基礎となる臨床アーカイブ構築という当初の課題をほぼ達成した。

2) これまで、かずさDNA研究所で行われていた遺伝子解析の結果は、1症例当たり1-5遺伝子に対するものであった。しかし、次世代シーケンサーによる確定検査システムの導入により、10遺伝子前後のパネル診断を導入できたことは、今後の原因遺伝子の同定効率の上昇につながるものと期待する。さらに、より

網羅性の大きなパネルの実現により、コストと効率の最適化を図っていくことが必要であろう。

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 を改良、維持することにより、着実に原発性免疫不全症における造血幹細胞移植法評価を行うために基礎データの蓄積が達成できた。
- 2) 次世代シーケンシングによる網羅的な解析だけでなく、ターゲット分析によるパネル遺伝子解析の導入に対応する遺伝子解析結果閲覧システムを構築できたので、今後より高効率で遺伝的な原因を調べつつ最適な移植法を選択していく見通しがたった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Rawat A, Singh S, Suri D, Gupta A, Saikia B, Minz RW, Sehgal S, Vaiphei K, Kamae C, Honma K, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Mitsui N, Ohara O, Chan KW, Lau YL. Chronic Granulomatous Disease: Two Decades of Experience From a Tertiary Care Centre in North West India. *J Clin Immunol*. 2013 N [Epub ahead of print]
- 2) Higuchi Y, Shimizu J, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Takada H, Ishimura M, Hara T, Ohara O, Asagoe K, Kubo T. The identification of a novel splicing mutation in C1qB in a Japanese family with C1q deficiency: a case report. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2013 Oct 28;11(1):41.
- 3) Wada T, Sakakibara Y, Nishimura R, Toma T, Ueno Y, Horita S, Tanaka T, Nishi M, Kato K, Yasumi T, Ohara O, Yachie A. Down-regulation of CD5 expression on activated CD8(+) T cells in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with perforin gene mutations. *Hum Immunol*. 2013 Dec;74(12):1579-85.
- 4) Lee YW, Yang EA, Kang HJ, Yang X, Mitsui N, Ohara O, Miyawaki T, Kanegane H, Lee JH. Novel mutation of IL2RG gene in a Korean boy with X-linked severe combined immunodeficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23(1):65-7.
- 5) Suzuki J, Kuwahara M, Tofukuji S, Imamura M, Kato F, Nakayama T, Ohara O, Yamashita M. A novel small compound SH-2251 suppresses Th2 cell-dependent airway inflammation through selective modulation of chromatin status at the Il5 gene locus. *PLoS One*. 2013 Apr 16;8(4):e61785.
- 6) 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 May;33(4):857-64.
- 7) Kamae C, Nakagawa N, Sato H, Honma K, Mitsui 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-deleting recombination excision circles. *J*

Allergy Clin Immunol. 2013
May;131(5):1437-40.e5.

クス解析の将来展望」 小原 収 千葉
2013年6月

2. 学会発表

(海外)

- 1) 15th International Congress of Immunology 2013 “Common variable immunodeficiency classification by quantifying T-cell receptor and immunoglobulin κ -deleting recombination excision circles” C. Kamae, N. Nakagawa, H. Sato, K. Honma, N. Mitsuiki, O. Ohara, H. Kanegane, T. Morio, K. Imai and S. Nonoyama, Milan, Italy, Aug, 2013.
- 2) 3rd Sardinian Summer School “Post-GWAS animal models” Ohara O. Pula, Italy, September, 2013.

(国内)

- 3) 第七回日本免疫不全症研究会 「食道潰瘍を反復した1型高IgE症候群の1例」 山本崇裕、大西秀典、寺本貴秀、桑原秀次、久保田一生、大塚博樹、川本典生、加藤善一郎、深尾敏幸、谷内江昭宏、小原 収 福岡 2014年1月25日
- 4) 第七回日本免疫不全症研究会 「複合型免疫不全を呈したsLC46A1新規変異による先天性葉酸吸収不全症」 千田奈津子、山田雅文、有賀正、岸本健治、小林良二、小林邦彦、小原 収 福岡 2014年1月25日
- 5) かずさDNA研究所/産総研生命情報工学研究センター共催ワークショップ バイオインフォマティクスとゲノム医療 - その課題と将来展望 - 「クリニカルゲノミクスの現状と課題」 小原 収 東京 2013年11月
- 6) The 5th LJI & IMS-RCAI Workshop “Post-GWAS genomic analyses: Mind and bridge the gaps” Ohara O. Yokohama, October, 2013
- 7) 第40回日本毒性学会学術年会 シンポジウム 毒性オミクス「生体システムダイナミクス理解のための統合ゲノミ

- 8) 第116回日本小児科学会学術集会 “「ゲノミクスを基礎とした新しい病因探索法」分野別シンポジウム「原発性免疫不全症：新しい疾患、トピックス」” 小原 収 広島 2013年4月
- 9) 第58回日本人類遺伝学会「次世代シーケンシング技術とゲノミクス解析」シンポジウム：次世代シーケンサーを用いた遺伝性疾患解析の現状と課題 小原 収 仙台 2013年11月
- 10) 第4回関東甲越免疫不全症研究会 “IgA単独欠損症として紹介され、TREC/KRECの結果からRAG1異常と同等しえた1例” 加藤環、釜江智佳子、本間健一、池川健、横須賀とも子、和田泰三、谷内江昭宏、西田直徳、金兼弘和、満生紀子、小原 収、今井耕輔、森尾友宏、野々山恵章 2013年9月
- 11) 第41回日本臨床免疫学会総会 「本邦におけるICF (Immunodeficiency with Centromeric instability and Facial anomalies) 症候群5例の検討」 藤環、釜江智佳子、満生紀子、小原明、林正俊、野口恵美子、久保田健夫、本間健一、小原 収、今井耕輔、野々山恵章 下関 2013年11月
- 12) 日本人類遺伝学会第58回大会 「次世代シーケンサーを用いてICF (Immunodeficiency with centromeric instability and facial anomalies) 症候群と診断した2例」 釜江智佳子、満生紀子、小原明、林正俊、野口恵美子、本間健一、小原 収、今井耕輔、久保田健夫、野々山恵章 仙台 2013年11月
- 13) 第41回日本臨床免疫学会総会 「BTK変異をみとめたIgA単独欠損の解析 (IgA deficiency caused by the missense mutation in the BTK gene)」満生紀子、今井耕輔、Xi YANG、金兼弘和、小阪嘉之、高田英俊、水谷修紀、小原 収、森尾友宏 下関 2013年11月
- 14) 第34回日本炎症・再生医学会 “CINCA症

候群/NOMID患者単球における、IL-1 β 分泌能の1細胞解析” 中川権史、志村七子、白崎善隆、山岸舞、井澤和司、西小森隆太、河合朋樹、八角高裕、平家俊男、小原收 京都、2013年7月

- 15) 第41回日本臨床免疫学会
「Muckle-Wells症候群におけるNLRP3体細胞モザイク変異の検討」 中川権史、西小森隆太、井澤和司、河合朋樹、八角高裕、河合利尚、梅林宏明、武井修治、小林法元、小原收、Eva Gonzalez- Roca、Juan I. Arostegui、平家俊男 下関2013年11月27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