

2014/5072A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等政策研究事業

原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類  
および診療ガイドラインの確立に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野々山 恵章

平成27(2015)年3月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等政策研究事業

原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類  
および診療ガイドラインの確立に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野々山 恵章

平成27(2015)年3月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等政策研究事業

原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類  
および診療ガイドラインの確立に関する研究

目 次

I. 総括研究報告

原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの確立 に関する研究	1
野々山 恵章 (防衛医科大学校小児科学講座)	

II. 分担研究報告

1. 複合免疫不全症について	11
2. 免疫不全を伴う特徴的な症候群について	20
3. 液性免疫不全を主とする疾患について	39
4. 免疫調節障害について	44
5. 原発性食細胞機能不全症および欠損症について	48
6. 自然免疫異常について	51
7. 先天性補体欠損症について	53
8. 好酸球増加症について	55
9. 後天性免疫不全症について	57
10. 慢性移植片対宿主病について	59
11. 原発性免疫不全症の遺伝子診断、解析等について	61
○ 資 料	73
診断基準、診療フローチャート等	
原発性免疫不全症合同班会議プログラム	
学会における研究発表資料	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	162
---------------------	-------	-----

IV. 研究成果の刊行に関する別冊	-----	169
-------------------	-------	-----

# I 総括研究報告

## 原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類 および診療ガイドラインの確立に関する研究

研究代表者 野々山 恵章 防衛医科大学校小児科学講座 教授

### 研究要旨

原発性免疫不全症は希少でありかつ200種類以上あるため、適切な診断や診療が困難であり、専門医による診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成は、患者QOL向上や重症度にあった難病支援に必要である。本研究では、迅速で正確な診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成を行い、患者QOLの向上と厚生労働省政策への貢献を果たす事を目的とした。

平成26年度は、国際免疫学会による9種に分けられた大分類を網羅するように、各大分類から代表的な疾患を選び、計22疾患を対象とした。方法としては、大分類ごとに専門家により成り立つ作業グループを作成し、大分類の中の代表的な疾患について、診断基準案、可能であれば重症度分類案、診断フローチャート案、診療ガイドライン案を作成した。それを各作業グループが全体班会議で発表し、研究代表者および研究分担者全員による議論の上、必要があれば修正後、診断基準などを承認した。

作業グループによる診断基準案、重症度分類、診断フローチャート、診療ガイドラインの作成方法は、論文検索、国際的な診断基準を参考にした。さらに本研究班で新規に構築したデータベースの活用、新規に開発したFACSによる迅速診断法、アンプリコンPCR・次世代シーケンサーなどを活用した既知原因遺伝子の迅速遺伝子診断法開発、診断に応用出来る機能解析法の開発、新規原因遺伝子同定などにより行った。

研究代表者

野々山 恵章 防衛医科大学校医学教育部医学科小児科学講座 教授

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分野 教授

有賀 正 北海道大学大学院医学研究科小児科学分野 教授

森尾 友宏 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 教授

今井 耕輔 東京医科歯科大学大学院

小児・周産期地域医療学講座寄付講座 准教授

小島 勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科 教授

谷内江 昭宏 金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授

平家 俊男 京都大学医学部小児科学講座 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 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分野 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 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 准教授

笹原 洋二 東北大学病院小児科 講師

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

高木 正稔 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 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 教授

## A. 研究目的

原発性免疫不全症は希少でありかつ200種類以上あるため、適切な診断や診療が困難であり、専門医による診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成は、患者 QOL 向上や重症度にあった難病支援に必要である。本研究では、迅速で正確な診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成を行い、患者 QOL の向上と厚生労働省政策への貢献を果たす事を目的とした。

## B. 研究方法

国際免疫学会による9種に分けられた大分類を網羅するように、各大分類から代表的な疾患を選び、計22疾患を対象とした。方法としては、大分類ごとに専門家により成り立つ作業グループを作成し、大分類の中の代表的な疾患について、診断基準案、可能であれば重症度分類案、診断フローチャート案、診療ガイドライン案を作成した。それを各作業グループが全体班会議で発表し、研究代表者および研究分担者全員による議論の上、必要があれば修正後、診断基準などを承認した。

作業グループによる診断基準案、重症度分類、診断フローチャート、診療ガイドラインの作成方法は、論文検索、国際的な診断基準を参考にした。さらに本研究班で新規に構築したデータベースの活用、新規に開発したFACSによる迅速診断法、アンプリコンPCR・次世代シーケンサーなどを活用した既知原因遺伝子の迅速遺伝子診断法開発、診断に応用出来る機能解析法の開発、新規原因遺伝子同定などにより行った。

データベースとしては Primary Immunodeficiency Database in Japan (PIDJ) を2009年に構築し、患者臨床情報、FACS 解析、遺伝子解析、細胞

やDNA保存を行い、既に3,404人が登録されている。これらのデータをもとに診断基準、重症度、診療ガイドラインを作成した。

診断法として、FACS、遺伝子解析を活用する。マルチプレックスPCRと次世代シーケンサーを用いた迅速遺伝子診断法も開発した。機能解析による診断法の確立も行った。また、TREC測定を用いた新生児スクリーニングも行った。

(倫理面への配慮)

データは匿名化して取り扱った。遺伝子解析、細胞分化実験などは、防衛医大倫理委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

### 1. 複合免疫不全症

複合免疫不全症はT細胞系、B細胞系両者の機能不全による疾患の総称で、2014年のIUIS免疫不全症分類では、複合免疫不全症として、41疾患、そのうち重症複合免疫不全症として14疾患が掲載されている。2011年に報告した本邦における複合免疫不全症の内訳をみると、最も頻度が高いのはX-SCIDで約半数を占め、ついでADA欠損症であった。欧米の重症複合免疫不全症の報告においても最も頻度が高いのがX-SCIDで次いでADA欠損症であった。

そこで、複合免疫不全症の臨床診断基準案を、米国における重症複合免疫不全症の診断基準 (Shearer et al. J Allergy Clin Immunol. 2013)、欧州における複合免疫不全症・重症複合免疫不全症の診断基準

(<http://esid.org/Working-Parties/Registry/Diagnosis-criteria>) を参考にして作成した。それを元に、過去の論文や我々の施設の経験を元にX連鎖重症

複合免疫不全症、ADA 欠損症の診断の進め方、診断基準を作成した。

具体的には、複合免疫不全症の T 細胞数の基準については、小児慢性特定疾患情報センターでは米国の Leaky SCID の基準と同様、2 歳未満では 1000/mm<sup>3</sup> 未満としているが、それでは乳児期の複合免疫不全症の患児を見逃す可能性があり、以下の論文を参考に、もう少し多くの患者を拾い上げるために新たな T 細胞数の基準を作成した (de Veris et al. *Pediatr Res* 1999, Comans-Bitter et al. *J Pediatr* 1997)。

また米国ではすでにスタンダードになりつつある新生児ろ紙血を用いた TREC のマススクリーニングを念頭に検査項目に TREC の基準を設けた。重症複合免疫不全症では感染症をきっかけに診断されることが多いが、感染は重篤化しやすく、またその場合根治治療である造血幹細胞移植の成績が著しく悪くなる。将来の新生児マススクリーニング導入を期待して TREC の項目を設けた。

X-SCID、ADA 欠損症の診断は最終的には遺伝子検査によるところが大きく、複合免疫不全症・重症複合免疫不全症の臨床診断基準を満たした患者の内、それぞれの遺伝子検査を行う患者の目安を設け、診断の進め方とした。

細網異形成症 (reticular dysgenesis: RD) は重症複合型免疫不全症 (SCID) の一種であり、最重症型の一つである。SCID のうち 2%以下を占めるとされる。通常常染色体劣性遺伝形式をとる。末梢血の T 細胞欠損と好中球減少症、胸腺と二次性リンパ器官の低形成、自然免疫欠損、液性・細胞性獲得免疫欠損を特徴とし、生後数日以内に致死性の敗血症を併発して死亡する。根治療法は造血幹細胞移植であり、生存例では進行性の

感音性難聴を合併する。一部の患者で Adenylate kinase 2 (AK2) 遺伝子に変異を認める。

RD に関する過去の文献的報告より臨床徴候をとりまとめ、Primary Immune Deficiency Treatment Consortium の策定した SCID の診断基準案との整合性を考慮しつつ、診断基準案を作成した。

RD の一部については、近年原因遺伝子が AK2 と特定された。しかし、AK2 欠損が血球分化を来すメカニズムは現在のところ全くわかっていない。今後、疾患発症メカニズムの解明とともに、新たなバイオマーカーなどが同定される可能性もあり、引き続き患者の集積を行い、疾患解析研究との連携を深めていく必要がある。また、RD は leaky SCID と分類されることがあり、Omenn 症候群の合併が報告されていることから、これに由来する症状にも注意を払う必要がある。臨床的には TREC や末梢血 T 細胞数/機能等の所見から SCID を考えたときに、著明な好中球減少を伴えば RD を考える必要がある。治療としては造血幹細胞移植以外の選択肢はないが、RD を疑った場合、長期的には感音性難聴が問題となるので、聴力検査等で評価をしておくことが肝要である。また、造血幹細胞移植後の長期生存例が集積されるにつれて、新たな合併症が明らかになる可能性もある。この点から患者の集積と追跡調査は重要である。

上記を考慮して、RD の診断基準案を作成した。班会議での議論を継続し、最新の知見をフォローしつつ、改訂を進める予定である。

## 2. 免疫不全を伴う特徴的な症候群

免疫不全症を伴う特徴的な症候群 (Wiskott-Aldrich 症候群を含む 13 疾患) について、エビデンスレベルの高い

論文やデータを元に、分担してその診断基準を策定することを目標とした。多くの疾患については診断フローチャートを作成するとともに、重症度についても考察し、診療ガイドライン（案）を完成させた。また診断基準策定と並行して、臨床所見、検査データ、免疫学的データを元に、これらの 13 疾患の確定診断として遺伝子解析にもあたった。また小児慢性特定疾患として認可されている疾患で代表的なものについては申請の手引きの作成も目指した。

具体的には、以下の疾患群について診断基準を策定した。Wiskott-Aldrich 症候群、毛細血管拡張性小脳失調症、ナイミーヘン染色体不安定症候群、Bloom 症候群、ICF 症候群、PMS2 異常症、RIDDLE 症候群、Schimke 病、ネザートン症候群、DiGeorge 症候群、高 IgE 症候群、肝中心静脈閉鎖症を伴う免疫不全症、先天性角化異常症。これらのガイドライン作成にあたっては、エビデンスレベルの高い論文を参照し、また PIDJ に蓄積したデータを活用した。

これらの疾患においては臨床症状や検査データが重要であり、それらに十分に配慮を行った上で、代表的な疾患についてはフローチャートを作成した。またこれらの疾患が小児慢性特定疾患として認可されている状況において、申請の手引も作成した。

ガイドラインを策定したが、今後この活用により、より確実に疾患が疑われ、またより確実な診断につながる事が期待される。高 IgE 症候群では特に、今までの Bodo Glimbacher らのスコアリングシステムから離れて original なものが作成されており、これまでの診断例の適応、今後の擬似症例への適応などが必要である。TYK2 はむしろ MSMD に分類されている状況で、今後非 STAT3 異常症の

蓄積と分別方法が重要と考える。毛細血管拡張性小脳失調症は類似疾患が多く、その簡単な鑑別方法についても開発が必要である。

### 3. 液性免疫不全を主とする疾患の診断基準の作成に関する研究

液性免疫不全症は中耳炎、肺炎、副鼻腔炎、下痢、敗血症などの反復性細菌感染症を契機に血清免疫グロブリン値の測定を行い、いずれかが低値であった場合に診断される。

主な液性免疫不全症である X 連鎖無ガンマグロブリン血症、分類不能型免疫不全症、高 IgM 症候群、IgG サブクラス、選択的 IgA 欠損症、特異抗体産生不全症、乳児一過性低ガンマグロブリン血症を対象として、UpToDate などを参考に診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成を行った。

### 4. 免疫調節障害

免疫調節障害は、原発性免疫不全症のうち、過剰な全身性炎症や自己免疫疾患の合併が病態の中心となる疾患群である。チェディアック・東症候群（CHS）のほか、X 連鎖リンパ増殖症候群（XLP）や自己免疫性リンパ増殖症候群（ALPS）が代表的疾患である。免疫調節障害は、細胞障害活性の異常に伴うリンパ球の過剰活性化、アポトーシスの障害によるリンパ球の過剰増殖、自己反応性リンパ球の除去や制御不全等により引き起こされると考えられている。

免疫調節障害の診断は、稀少疾患であること、専門的な検討が必要なことから必ずしも容易ではない。本邦における患者数は、CHS で 15 例、XLP1 で 30 例、XLP2 で 20 例、ALPS で 20 例程度と推定されている。このうち ALPS には、NIH International Workshop よる診断基準

(Blood 2010;116:e35-40) が存在し、本邦でも使用されることが多い。一方、CHS や XLP では、全国的な調査が行われ臨床的な特徴は明らかにされている (Pediatr Blood Cancer 2013;60:1582-6, Pediatr Allergy Immunol 2012;23:488-93, J Clin Immunol 2012;32:411-20) もの、診断基準は整備されていない。そこで本研究では、これら 3 疾患の診断基準の作成を行った。

国内外でこれまでに集められた知見をもとに、各疾患の診断基準を本研究班で統一された形式で作成した。

本分野は、毎年新しい原因遺伝子や疾患が見出される進歩の著しい領域である。また、既知の疾患に完全に一致しない免疫調節障害も知られており、その病態や診断には常に専門的な検討が必要である。

## 5. 原発性食細胞機能不全症および欠損症

原発性食細胞機能不全症および欠損症の中で、機能不全の代表的な疾患である慢性肉芽腫症について検討した。

食細胞活性酸素産生能を評価後、最も患者の多い細胞膜蛋白 (gp91/p22phox) の有無を 7D5 モノクローナル抗体で検査する。細胞質蛋白については Western blot 法または p47-, p67-phox 抗体を用いて FACS 解析により診断する。次に各々の欠損蛋白による遺伝子解析を行い、病型の確認をする。

NCF-1 遺伝子解析では 2 つの偽遺伝子 (NCF1b, 1c) があるため、遺伝子解析だけでなく、exon2 の 73-74 del GT を含んだ gene scan による偽遺伝子と真の遺伝子との量比解析や、MLPA 法による偽遺伝子との Cross over 解析が必要となる。

日本における慢性肉芽腫症登録患者は 350 名を超えている。病型分類が完了している患者は 285 名でその病型分類を欧米から報告と比較した。

gp91phox および p22phox 欠損型は欧米とその比率は変わらないが、p47phox 欠損型は NIH と比較して約 1/4、p67phox 欠損型はむしろ 3 倍であった。

日本での 350 名を超える慢性肉芽腫症患者の登録を元に、欧米との比較し、その診断基準を提示した。

## 6. 自然免疫不全症

2104 年の International Union of Immunological Societies (IUIS) の分類では、自然免疫不全症には、1. 免疫不全を伴う無汗性外胚葉形成異常症 (NEMO 欠損症、IKBA 欠損症) 2. TIR シグナル伝達経路の異常 (IRAK4 欠損症、MyD88 欠損症)、3. HOIL1 欠損症、4. WHIM 症候群、5. 疣贅状表皮発育異常症、6. 重症ウイルス感染症 (STAT2 欠損症、MCM4 欠損症)、7. 単純ヘルペス脳炎、8. CARD9 欠損症、9. 慢性皮膚粘膜カンジダ症、10. トリパノソーマ症、11. 孤立性無脾症の 11 疾患が分類されている。これらの疾患の診断は臨床像や臨床検査所見のみでは困難なことが少なくない。また、早期診断が患者の予後や QOL に影響することも知られている。今回、自然免疫不全症の病態を基盤として、3 疾患について診断基準を作成した。

Toll-like receptor からのシグナル伝達異常のある疾患の場合は、フローサイトメーターを用いた LPS 刺激後の単球内 TNF- $\alpha$  産生能を測定する迅速診断法を確立した。

免疫学的病態を基盤とした迅速診断・スクリーニング検査、遺伝子検査を組み合わせることで診断することが重要である。

## 7. 先天性補体欠損症

先天性補体欠損症として、古典経路に関わる C1、古典経路およびレクチン経路双方に関わる C4、C2、すべての経路の共通因子である C3、膜侵襲複合体 (MAC) を形成する補体後期成分 C5、C6、C7、C8、C9 の欠損症がある。

先天性補体欠損症では以下の症状がありうる。

1. オプソニン化の障害による症状、反復性細菌感染症または重症化
2. MAC 形成が障害されることによる症状として、髄膜炎菌性髄膜炎に 5 歳以上で罹患するなど、ナイセリア属細菌への易感染
3. 免疫複合体の溶解・除去が障害されることによる、SLE 様症状、リウマチ性疾患、糸球体腎炎、血管炎症候群など自己免疫性疾患・免疫複合体病の合併  
本疾患に特徴的な検査所見は、全ての補体成分欠損症で認められる CH50 の低値であり、CH50 値が正常ならば補体欠損症の可能性は否定される。次に証明すべきは補体成分の欠損および対応する責任遺伝子の変異を検討する。

## 8. 好酸球増加症

末梢血液中の好酸球が  $1\text{mm}^3$  あたり 1500 個以上に増加し、全身の結合組織を侵す病気である。

一部の症例では異常な表面形質を有する T リンパ球が増殖し、これらが IL-5 などの増殖因子を大量分泌して好酸球増加症の原因となる。

また、一部症例ではチロシンキナーゼ阻害薬であるイマニチブにより好酸球の増加が抑制され、FIP1L1-PDGFR $\alpha$  はチロシンキナーゼとして恒常的に活性化していることから、この融合遺伝子が病因としても考えられている。

FIP1L1-PDGFR $\alpha$  の融合 mRNA が検出されないにも関わらずイマニチブに感受性のある、イマニチブ作用チロシンキナーゼが不明な症例も存在する。

本研究ではエビデンスレベルの高い論文・データ、国内外のガイドライン等を検討し、分担してその特徴的な臨床像と所見をまとめた。

これらのガイドライン検討にあたっては、エビデンスレベルの高い論文を参照し、また PIDJ に蓄積したデータを活用した。

## 9. 後天的な免疫系障害による免疫不全症

後天的な免疫系障害による免疫不全症には、後天的な遺伝子変異により起きる免疫不全症と、後天的に産生される自己抗体による免疫不全がある。これらの疾患の診断基準を作成した。

- 1) 後天的な遺伝子変異によるもの
  - a) 自己免疫性リンパ球増殖症 (ALPS)
  - b) RAS 関連自己免疫性リンパ増殖症候群様疾患 (RALD)
- 2) 後天的な自己抗体産生によるもの
  - a) 慢性皮膚粘膜カンジダ症
  - b) 成人発症型免疫不全症
  - c) 反復性皮膚疾患
  - d) 肺胞蛋白症 (PAP)
  - e) 後天性血管性浮腫 (AAE)

## 10. 慢性移植片対宿主病

移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD) は同種造血幹細胞移植 (骨髄、末梢血、臍帯血移植) に伴う合併症の一つであり、ドナー (造血幹細胞提供者) のリンパ球が、免疫応答によってレシピエントの臓器を攻撃することによって起こる症状の総称である。

従来、移植後 100 日 (day100) 以降に生じる GVHD が慢性 GVHD とされていたが、2005 年米国の NIH が主催したワーキンググループによって大幅な改定が提案され、2008 年に造血幹細胞移植学会から、慢性 GVHD は発症時期を問わずに一定の診断基準に従って診断することが提唱されている。

上記のガイドラインは、主として血液疾患への造血幹細胞移植後に発症する慢性 GVHD について検討されたものであるが、本研究では上記に加えて原発性免疫不全症への造血幹細胞移植後の GVHD について検討し、ガイドラインが適当であるかを検討した。

これらのガイドライン検討にあたっては、エビデンスレベルの高い論文を参照し、また PIDJ に蓄積したデータを活用した。

既存のガイドラインは主として血液疾患への造血幹細胞移植後について検討されたものであったが、原発性免疫不全症の移植後の GVHD について検討し、上記のガイドラインは同様に適応可能であると考えられた。

## 11. 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 601 例の疫学的解析

平成 18 年度から、厚生労働省原発性免疫不全症候群に関する調査研究班（以下、研究班）は、基礎免疫学研究施設である理化学研究所免疫アレルギー科学総合センター（以下、RCAI）、ゲノム解析施設であるかずさ DNA 研究所と共同研究を開始し、臨床情報の中央化、臨床検体解析／保存の中央化、遺伝子解析の中央化、を通し、臨床診断、治療のみならず、基礎免疫学へも貢献する枠組みを開始した。そのハブとなるシステムが、PIDJ (Primary Immunodeficiency Database in

Japan) である。今年度の研究では、平成 26 年 (2014 年) 中に PIDJ に登録された症例について疫学的に検討した。

10 カラーフローサイトメトリー (FACS) による表面抗原分析により効果的に診断する方法について開発し、遺伝子診断につなげた。

本年度、PIDJ ネットワークを通して、601 例の原発性免疫不全症疑い症例が紹介された (図 1)。これは、全国で 1 日に 1.64 例の新規原発性免疫不全症患者が発生していることを示しており、昨年度の 1.27 倍となる。2014 年末現在、総計 3386 例が PIDJ データベースに登録されている。これは、人口 10 万人あたり、2.66 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、自己炎症性疾患が 238 例 (40%) と最多であり、昨年の 1.27 倍となっている。また、自己炎症性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。次に多いのが免疫調節異常症 73 例 (12%) であり、昨年から比べ倍増した。以下、免疫不全症を呈する症候群 67 例 (11%)、貪食細胞異常症 57 例 (9%) 抗体産生不全症 55 例 (9%) と続き、複合免疫不全症、自然免疫不全症、補体欠損症は少数であった。分類不能例が 71 例 (12%) と増加していた (図 2)。

比較的複合免疫不全症が少ない結果となっているが、分類不能免疫不全症 (CVID) の中に TREC 低値、すなわち T 細胞新生能の低い亜群があることが判明しており、また一部に自己炎症症状を呈する T 細胞機能不全症があることも分かっていることから、今後、紹介例全症例について、TREC 解析を行いスクリーニング検査とする予定である。

また、全体の中で成人例が 42% (1429 例) をしめている。内科からの紹介も多

くあり、成人期への移行症例および成人期での診断症例の存在からも、今後内科での取組が重要となると考えられる。

候補遺伝子解析は、約 30%の同定率であり、ほぼ一定している。同定に至った例は、FACS を用いた原因遺伝子産物の解析が役に立った例も多く、X連鎖性のPIDが多いのも特徴である。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示唆された。今年度も、アミノ酸の置換を伴わない新規変異によるスプライス異常を伴ったXSCIDを発見した(2014MK001)。

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も示唆された。また、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をSCID症例について、防衛医大小児科との共同研究により検討し、有効性が確認できた。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検討中である。

## 12. TREC 測定による新生時マススクリーニングの確立

現在、欧米では重症複合型免疫不全症(SCID)に対する新生児マススクリーニングの導入が進められている。そこで、新生児マススクリーニングの本邦での導入の可否を検討した。

その結果、TREC測定系は一定の確からしさを持ってTREC測定することが可能であることが確認された。

今後はパイロットスタディとして新生児のTRECを測定し、大量検体測定に

おける系の確からしさを検証し、本邦におけるSCIDのTREC測定による新生児マススクリーニングの導入に繋げる。

## 13. 原発性免疫不全症遺伝子診断の検討

原発性免疫不全症の原因となる事が既知である遺伝子に対して、その遺伝子がタンパク質をコードするエクソンとそのエクソン・イントロン境界配列をDNAシーケンシング法により解析した。ABI3130/3730キャピラリーシーケンサー(Life Technologies, Applied Biosystems®)での解析、次世代シーケンサー(Roche, GS Junior; Illumina, MiSeq)を用いたパネル診断での対応も行った。

今年度は12月末の時点で本研究班の研究分担者から358症例の解析依頼を受け、解析した述べ遺伝子数は1500を越えた。このペースはこれまでの解析症例数を大きく上回った。この作業効率向上には次世代シーケンサーシステムの導入が大きく貢献した。

## D. 考察

大分類ごとに専門家により成り立つ作業グループを作成し、大分類の中の代表的な疾患について、診断基準案、可能であれば重症度分類案、診断フローチャート案、診療ガイドライン案を作成した。それを各作業グループが全体班会議で発表し、主任研究者および研究分担者全員による議論の上、必要があれば修正後、診断基準などを承認できた。

日本免疫不全症研究会等関連諸学会により、作成した診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの認証を得る。作成した診断基準・重症度分類および診療ガイドラインを、難病情報センターや各学会のホームページでの公開、学会講

演会、一般医への印刷物の配布などで周知する。

以上の研究により、患者 QOL の向上、難病医療の向上、厚生労働政策への貢献を果たす事が出来ると考えられた。

## E. 結論

国際免疫学会による9種に分けられた大分類から代表的な疾患を選び、計 22 疾患について、診断基準を作成し、一部は重症度分類、診断フローチャート、診療ガイドラインも作成できた。

## F. 研究危険情報

特になし。

## G. 研究発表

論文発表、および学会発表  
巻末参照。

## 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

## Ⅱ 分 担 研 究 報 告

## 複合免疫不全症

### X連鎖重症複合免疫不全症, ADA欠損症の診断基準の作成について

有賀 正	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野
森尾 友宏	東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野
今井 耕輔	東京医科歯科大学小児・周産期地域医療学講座
中畑 龍俊	京都大学 iPS 研究所臨床応用研究部門
原 寿郎	九州大学大学院医学研究院成長発達医学
野々山恵章	防衛医科大学校医学研究科小児科学
小野寺雅文	国立成育医療研究センター成育遺伝研究部
山崎 康博	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野

**研究要旨:** 複合免疫不全症のうち頻度の高いX連鎖重症複合免疫不全症, ADA欠損症について過去の論文や我々の施設の経験を元に診断基準を策定した。小児慢性特定疾患情報センターに掲載されている情報との整合性にも注意を払った。複合免疫不全症は臨床的に鑑別が困難な事が多いため, まず複合免疫不全症, 重症複合免疫不全症の臨床診断基準案を作成し, それを元に各疾患の診断の進め方, 診断基準を作成した。

#### A. 研究目的

本研究では複合免疫不全症のうち頻度の高いX連鎖重症複合免疫不全症(X-SCID), ADA欠損症について, その診断基準を策定し, ガイドラインとして提供することが目的である。その過程においてガイドラインの検証という意味も含め, 本症候群に含まれる疾患の実際の診断に当たることも副次的な目的とする。

#### B. 研究方法

##### 1) 疾患の診断

複合免疫不全症はT細胞系, B細胞系両者の機能不全による疾患の総称で, 2014年のIUIS免疫不全症分類では, 複合免疫不全症として, 41疾患, そのうち重症複合

免疫不全症として14疾患が掲載されている。2011年に報告した本邦における複合免疫不全症の内訳をみると, 最も頻度が高いのはX-SCIDで約半数を占め, ついでADA欠損症であった。欧米の重症複合免疫不全症の報告においても最も頻度が高いのがX-SCIDで次いでADA欠損症であった。今回は頻度の高いX-SCIDとADA欠損症の診断基準を策定した。複合免疫不全症は臨床的に共通点が多く, 鑑別が困難なことから, まず複合免疫不全症・重症複合免疫不全症の各疾患に共通する臨床診断基準を策定した。それに際して米国における重症複合免疫不全症の診断基準 (Shearer et al. J Allergy Clin Immunol. 2013), 欧州における複合免疫不全症・重症

複合免疫不全症の診断基準

(<http://esid.org/Working-Parties/Registry/Diagnosis-criteria>) を参考にした。

## 2) ガイドラインの策定

複合免疫不全症の T 細胞数の基準については、小児慢性特定疾患情報センターでは米国の Leaky SCID の基準と同様、2 歳未満では  $1000/\text{mm}^3$  未満としているが、それでは乳児期の複合免疫不全症の患児を見逃す可能性があり、以下の論文を参考に、もう少し多くの患者を拾い上げるために新たな T 細胞数の基準を作成した (de Veris et al. *Pediatr Res* 1999, Comans-Bitter et al. *J Pediatr* 1997) .

また米国ではすでにスタンダードになりつつある新生児ろ紙血を用いた TREC のマススクリーニングを念頭に検査項目に TREC の基準を設けた。重症複合免疫不全症では感染症をきっかけに診断されることが多いが、感染は重篤化しやすく、またその場合根治治療である造血幹細胞移植の成績が著しく悪くなる。2009 年北海道内において ADA 遺伝子に未報告の塩基置換のある患者を同定した。同患者は TREC が低く、ADA 酵素活性が低いことから診断に結びついたが、造血幹細胞移植前からの感染が原因となり、移植後 22 日目に残念ながら亡くなってしまった。兄も生後まもなく重篤な呼吸器感染症で亡くなっていたが、同じ疾患と考えられる。この兄弟は TREC の新生児マススクリーニングが本邦で導入されれば救えた可能性がある。現在では防衛医科大学校、東京医科歯科大学など一部の施設でしか TREC 検査は出来ないが、将来の新生児マススクリーニング導入を期待して TREC の項目を設けた。

X-SCID, ADA 欠損症の診断は最終的には遺伝子検査によるところが大きく、複合免疫不全症・重症複合免疫不全症の臨床診断基準を満たした患者の内、それぞれの遺伝子検査を行う患者の目安を設け、診断の進め方とした。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断や責任遺伝子産物解析等にあたっては、各種臨床研究指針や遺伝子解析に関わる指針を遵守して、患者への説明と同意の下に実施した。本研究については東京医科歯科大学医学部倫理審査委員会及び、北海道大学医学部倫理審査委員会の承認を得て実施した。

## C. 研究結果

### 2) ガイドラインの策定

別途添付文書に示されるような診断基準を策定した。

## D. 考察

我々は本邦の現時点において最良と考えられる診断基準を作成したが、結局既に感染症をきたした患者を拾い上げて診断することが主となってしまったため、診断は出来たが感染症を克服できずに救えない患者をなくす事はできない。先に述べたように重症複合免疫不全症の診断においては、感染症前の早期診断が最も望ましく理想的である。そのためには米国の多くの州で導入されている TREC マススクリーニングの本邦での導入が強く期待される。また ADA 欠損症は新生児期には T 細胞新生能が保たれ TREC が正常範囲の患者がいるが、そのような患者もタンデムマスを用いて新生児ろ紙血中のアデノシン代謝産物を調べることでスクリーニングが可能である。タンデムマスは既に本邦でも先天代謝異常症スクリーニン

グで用いられており、またタンデムマスによるADA欠損症スクリーニングのランニングコストは欧州の報告では1サンプル0.01€と非常に安価である(Marcia et al. *J Allergy Clin Immunol* 2013). TRECに加えて、ADA欠損症のマススクリーニングを行うことで、複合免疫不全症の多くの患者の命を救える可能性がある。

#### E. 結論

複合免疫不全症のうちX連鎖重症複合免疫不全症、ADA欠損症の診断にあたってのガイドラインを策定した。

#### F. 研究発表

1. Horino S, Sasahara Y, Satoh M, Niizuma H, Kumaki S, Abukawa D, Satoh A, Imaizumi M, Kanegane H, Kamachi Y, Kobayashi I, Ariga T, Tsuchiya S, Kure S. Selective expansion of regulatory T cells in mixed chimera after allogeneic bone marrow transplantation in a patient with IPEX syndrome. *Pediatr Transplant*. 2014.
2. Kanegane H, Imai K, Yamada M, Takada H, Ariga T, Bexon M, Rojavin M, Hu W, Kobayashi M, Lawo J-P, Nonoyama S, Hara T, Miyawaki T. Efficacy and safety of IgPro20, a subcutaneous immunoglobulin in Japanese patients with primary immunodeficiency diseases. *J Clin Immunol*. 2014
3. Marciano BE, Huang CY, Joshi G, Rezaei N, Carvalho BC, Allwood Z, Ikinogullari A, Reda SM, Gennery A, Thon V, Espinosa-Rosales F, Al-Herz W, Porras O, Shcherbina A, Szaflarska A, Kiliç S, Franco JL, Gómez Raccio AC, Roxo P Jr, Esteves I, Galal N, Grumach AS, Al-Tamemi S, Yildiran A, Orellana JC, Yamada M, Morio T, Liberatore D, Ohtsuka Y, Lau YL, Nishikomori R, Torres-Lozano C, Mazzucchelli JT, Vilela MM, Tavares FS, Cunha L, Pinto JA, Espinosa-Padilla SE, Hernandez-Nieto L, Elfeky RA, Ariga T, Toshio H, Dogu F, Cipe F, Formankova R, Nuñez-Nuñez ME, Bezrodnik L, Marques JG, Pereira MI, Listello V, Slatter MA, Nademi Z, Kowalczyk D, Fleisher TA, Davies G, Neven B, Rosenzweig SD. BCG vaccination in patients with severe combined immunodeficiency: Complications, risks, and vaccination policies. *J Allergy Clin Immunol*. 2014
4. Akimoto T, Cho K, Hayasaka I, Morioka K, Kaneshi Y, Furuta I, Yamada M, Ariga T, Minakami H. Hereditary interstitial lung diseases manifesting in early childhood in Japan. *Pediatr Research* 2014
5. Yamazaki Y, Yamada M, Kawai T, Morio T, Onodera M, Ueki M, Watanabe N, Takada H, Takezaki S, Chida N, Kobayashi I, Ariga T. Two novel gain-of-function mutations of *STAT1* responsible for chronic mucocutaneous candidiasis disease: Impaired production of IL-17A and IL-22, and the presence of anti-IL-17F autoantibody. *J Immunol*. 2014
6. Chida N, Kobayashi I, Takezaki S, Ueki M, Yamazaki Y, Garelli S, Scarpa R, Horikawa R, Yamada M, Betterle C, Notarangelo L, Ariga T. Disease specificity of anti-tryptophan hydroxylase-1 and anti AIE-75 autoantibodies in APECED and IPEX

syndrome. Clinical Immunology 2014

7. Okura Y, Kawamura N, Okano M, Toita N, Takezak S, Yamada M, Kobayashi I, Ariga T. Fusarium falciforme infection in a patient with chronic granulomatous disease . Pediatr Int in press.
8. Okura Y, Yamada M, Kobayashi I, Kuribayashi F, Ariga T. Monocyte/macrophage-specific NADPH oxidase contributes to antimicrobial host defense in X-CGD. J Clin Immunol in press.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし.