

分担研究課題

次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

研究分担者 松原洋一（国立成育医療研究センター 研究所長）

原発性免疫不全症(PID)マススクリーニングの現状と課題

研究協力者 今井耕輔（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
茨城県小児・周産期地域医療学講座）

研究要旨

原発性免疫不全症(PID)は、主に、易感染を認める疾患群であるが、最初の感染症が致死的事であることもまれではなく、海外では、最重症のSCIDを対象としたTRECを用いた新生児マススクリーニングが普及しつつある。本邦では、一般医からの疑い例を確定診断する体制をPIDJネットワークとして確立させ、KRECによるマススクリーニング法の開発、そのキット化、ろ紙血からの次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断法の確立、最小量の血液からのFACSによる診断法の開発などを行ってきた。候補遺伝子のシーケンス機能解析を行う仕組みを構築し、現在までに約4000例が登録された。このうち約半数がTREC、KRECに異常を示すことを明らかにした。今後、前方視的パイロットスクリーニングを開始し、本邦のPID患者の予後の改善に寄与できればと考えている。

A．研究目的

原発性免疫不全症(PID)は、主に、易感染を認める疾患群であるが、最初の感染症が致死的事であることもまれではない。海外では、新生児ろ紙血を用いて、TREC（T細胞受容体遺伝子再構成断片）を測定することで、T細胞産生障害に起因する重症複合免疫不全症(SCID)を新生児期にスクリーニングする方法が行われている。

特にアメリカでは300万人のスクリーニングが終了し、50人以上のSCID患者を発見し、治療し救命している。台湾でも、10万人のスクリーニングにより、3人のSCID患者が発見され、救命された。日本では、乳児期に口タワクチン、BCGワクチン、麻疹・風疹・水痘ワクチンなどの生ワクチンを接種していることもあり、このスクリーニングの導入は急務である。さらに、我々が開発したKREC（Ig鎖遺伝子再構成断片）定量を用いたスクリーニングにより、通常3歳以上で発見されるB細胞欠損症や、7歳で

発見される毛細血管拡張性運動失調症も発見することが可能であり、重症感染症や、放射線照射を避けることで合併症を予防することができると思われる。

B．研究方法

日本におけるPIDマススクリーニング体制の構築に必要な問題点等について検討した。また、TREC、KREC、RNasePのプライマー・プローブを1wellに入れたキットを作成した。

（倫理面への配慮）

本研究については、東京医科歯科大学医学部倫理委員会での承認を受けて、各種倫理指針を遵守し、患者への説明と同意の下に実施している。

C．研究結果

我々は2008年から、厚労省研究班（13大学・病院）、理化学研究所およびかずさDNA研究所の共同研究として、PIDJ（Primary

Immunodeficiency Database in Japan) ネットワークを構築し、一般医が専門医にPIDについて、相談出来、候補となる既知遺伝子をシークエンスして遺伝子診断を行い、機能解析を行うしくみを構築してきた。これにより、すでに、4,000例を超える症例が登録され、そのうち約半数が、TREC、KREC 異常が出うる獲得免疫異常症であることがわかった。このネットワーク施設を新生児マススクリーニング後の精密検査施設・治療対応施設とすることを考えている。

一方、パイロットスクリーニングについては、現在、成育医療研究センター病院出生児について、前向きのパイロットスクリーニングを始めたほか、東京医科歯科大学も含めた複数の施設で同様の前向きスクリーニングを行うことを計画している。当初はこうした施設でのスクリーニングは研究費で行うが、方法確立後は、自費による検査体制を作っていくことも考えている。

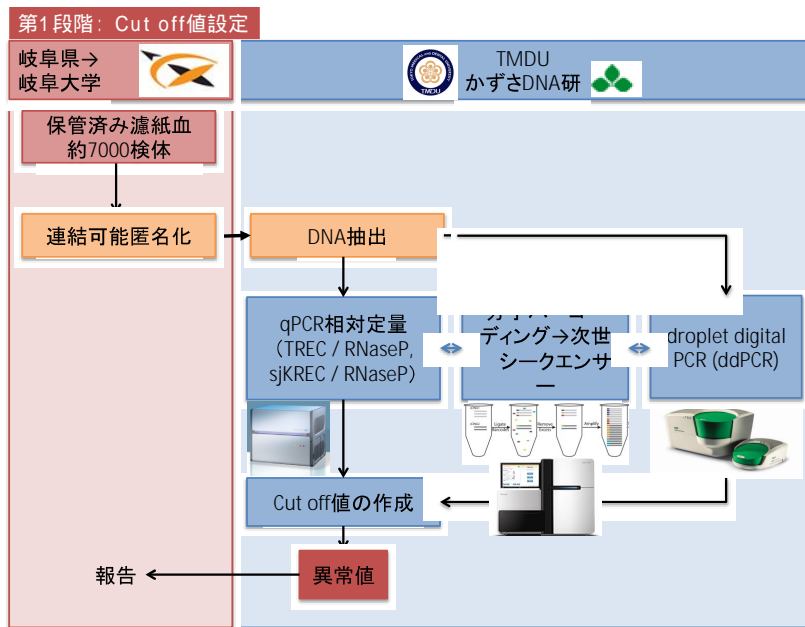


図1. 第1段階: Cut off値設定 略字: TMDU=東京医科歯科大学

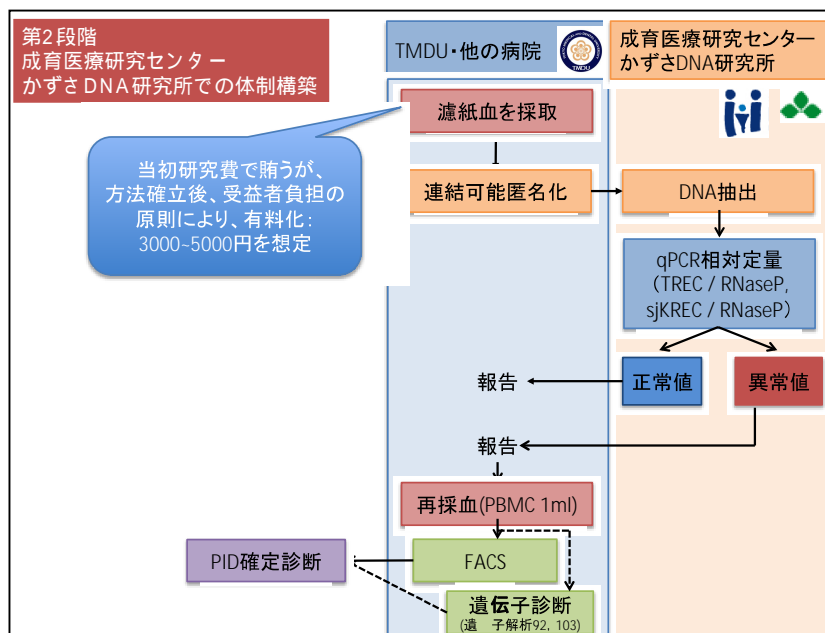


図2. 第2段階: 体制構築 略字: TMDU=東京医科歯科大学

第3段階：各スクリーニングセンターでの体制構築

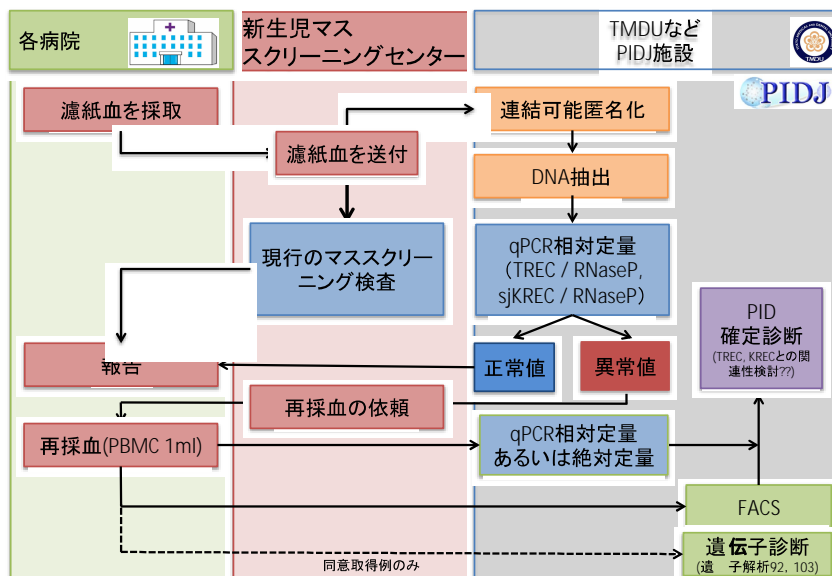


図3. 第3段階：各スクリーニングセンターでの体制構築 略字：TMDU=東京医科歯科大学

また、TREC、KREC、RNaseP に対するプライマー・プローブ等を固相化したキットを特許取得済みの方法を用いて開発中である。preliminary な結果は、市販のキットと同様であり、コストの削減、在庫の確保の面からも普及できるよう、さらにデータを取得したいと考えている。

さらに、発見後の少量血液(500ul)で評価可能な FACS パネルの作成、ろ紙血からの DNA を用いたアンプリコンシーケンス法を用いた次世代シーケンス法による SCID 関連 29 遺伝子の迅速診断法を確立しており、マススクリーニング後の体制については、確立出来ていると考えられる。

D. 考察

日本は海外に比べ、PID 新生児マススクリーニング自体は出遅れた状況ではあるが、諸外国が TREC のみを用いているのに比べて、我々は KREC を用いた B 細胞欠損症、AT についてもマススクリーニング可能な体制を構築中であり、今後さらに体制を確立させ、パイロットスクリーニングを開始する必要があると考えられる。

E. 結論

PID 新生児マススクリーニングの方法としては、すでに確立しつつあり、精密検査法についても確立しつつある。あとは少数例から実際に前方視的検査を開始し、その問題点を明らかにして行きつつ、全国一律な開始に向けて、努力していくことが、マススクリーニングがないことにより、命を落としたり、重症感染症に罹患している子どもたちの予後を改善することにつながると考えられる。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tamura S, Higuchi K, Tamaki M, Inoue C, Awazawa R, Mitsuki N, Nakazawa Y, Mishima H, Takahashi K, Kondo O, Imai K, Morio T, Ohara O, Ogi T, Furukawa F, Inoue M, Yoshiura KI, Kanazawa N: Novel compound heterozygous DNA ligase IV mutations in an adolescent with a slowly-progressing radiosensitive-severe combined

immunodeficiency. Clin Immunol. 160:255-260, 2015

- 2) Rawat A, Imai K, Suri D, Gupta A, Bhisikar S, Saikia B, Minz RW, Sehgal S, Singh S: Ataxia Telangiectasia Masquerading as Hyper IgM Syndrome. Indian J Pediatr. 2015. [Epub ahead of print]
- 3) Wehr C, Gennery AR, Lindemans C, Schulz A, Hoenig M, Marks R, Recher M, Gruhn B, Holbro A, Heijnen I, Meyer D, Grigoleit G, Einsele H, Baumann U, Witte T, Sykora KW, Goldacker S, Regairaz L, Aksoylar S, Ardeniz Ö, Zecca M, Zdziarski P, Meyts I, Matthes-Martin S, Imai K, Kamae C, Fielding A, Seneviratne S, Mahlaoui N, Slatter MA, Gungör T, Arkwright PD, van Montfrans J, Sullivan KE, Grimbacher B, Cant A, Peter HH, Finke J, Gaspar HB, Warnatz K, Rizzi M: Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the European Society for Immunodeficiency. Multicenter experience in hematopoietic stem cell transplantation for serious complications of common variable immunodeficiency. J Allergy Clin Immunol. 135:988-97.e6, 2015
- 4) Kato T, Crestani E, Kamae C, Honma K, Yokosuka T, Ikegawa T, Nishida N, Kanegane H, Wada T, Yachie A, Ohara O, Morio T, Notarangelo LD, Imai K, Nonoyama S: RAG1 deficiency may present clinically as selective IgA deficiency. J Clin Immunol. 35:280-8, 2015
- 5) Mitsuiki N, Yang X, Bartol SJ, Grosserichter-Wagener C, Kosaka Y, Takada H, Imai K, Kanegane H, Mizuani S, van der Burg M, van Zelm MC, Ohara O, Morio T: Mutations in Bruton's tyrosine kinase impair IgA responses. Int J Hematol. 101:305-13, 2015

2. 学会発表

- 1) 今井耕輔: 免疫不全症マスキングの可能性. 第 42 日本マスキング学会 学術集会 2015.08.21 大手町サンケイプラザ
- 2) 今井耕輔: 小児感染免疫領域に必要な診療支援ネットワーク PIDJ ネットワーク. 第 47 回 日本小児感染症学会 2015.10.31 福島
- 3) 加藤環、釜江智佳子、高島健浩、今井耕輔、小原収、野々山恵章: 次世代シーケンサーを用いた原発性免疫不全症の迅速遺伝子診断法の確立. 第 6 回関東甲越免疫不全症研究会 2015.09.27
- 4) 友田昂宏、宮本智史、久保田真理、小野真太郎、足洗美穂、満生紀子、高木正稔、今井耕輔、梶原道子、金兼弘和、森尾友宏: 経口ロタウイルスワクチン株の持続排泄を認めた X 連鎖重症複合免疫不全症の一例. 第 47 回小児感染症学会 2015.10.31 福島
- 5) 岡野翼、渡辺恵理、友田昂宏、久保田真理、宮本智史、高島健浩、満生紀子、高木正稔、今井耕輔、金兼弘和、森尾友宏: 肝脾腫・高 IgG 血症を呈した 9 か月男児: 第 6 回関東甲越免疫不全症研究会 2015.09.27 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

1. 特許取得

該当無し

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し