

別表1 プリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ欠損症

疾患名(日本語): プリンヌクレオチドホスホリラーゼ欠損症

疾患名(英語): Purine nucleoside phosphorylase deficiency (PNP deficiency)

OMIM番号: 613179, ICD9分類: 279.2, ICD10分類: D81.5

疾患概要

先天的PNPの欠損によりT細胞を主体とする免疫不全症を呈する疾患

原因遺伝子は*PNP*(14q13.1)、AR

発症頻度は極めて稀で、これまで30家系、50症例程度の報告がある

年齢に伴い易感染性が顕著化し、進行性の神経障害や自己免疫性疾患を発症する

臨床症状: 酵素異常にて遺伝子変異にて症状、発症時期が異なる(4ヶ月～6歳)

易感染性: T細胞主体の免疫不全 日和見感染症(細菌、ウイルス、真菌)

神経症状: 2/3の患者に進行性神経障害

発達障害、筋痙性、運動失調、錐体路兆候を伴う不均衡症候群

自己免疫性疾患: 1/3の患者で様々な自己免疫症状を呈する

溶血性貧血、血小板減少、好中球減少、甲状腺炎、SLE、脳血管炎、硬化性胆管炎

検査所見

1. 赤血球、白血球、線維芽細胞中のPNP低下(5%)or 欠損
2. 血漿、尿中の尿酸値の低下
3. T細胞数(CD3, CD4, CD8)の減少、B細胞(CD19)は正常のことが多い
4. カンジダ、破傷風等に対するDTH反応の低下
5. ガンマグロブリン値は正常か上昇
6. 骨髄異形成や悪性リンパ腫等の悪性腫瘍を発症

治療

HLA一致造血幹細胞移植であり、移植により神経症状が改善することがある

遺伝子治療は研究中

酵素補充療法は、現時点では行われていない

予後、その他

不良 移植をしなければ感染症等にて10歳代までで死亡

NBSの対象となる

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等政策研究事業 (難治性疾患政策研究事業))
分担研究報告書

複合免疫不全症
CD8 欠損症の診断基準の作成について

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分野
研究協力者	戸澤 雄介	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野
	山田 雅文	北海道大学大学院医学研究科小児科学分野

研究要旨 CD8 欠損症は CD8 α サブユニットをコードする遺伝子 *CD8A* の異常によって CD8 発現が欠損し、細菌感染やウイルス感染を反復する原発性免疫不全症である。現在までにホモのアミノ酸置換による 3 家系報告がみられ、本邦からは未報告である。遺伝子の異常はいずれも c.331G>A, p.G111S である。検査上の特徴は CD8 陽性細胞の完全欠損、CD4 陽性細胞正常、CD4-CD8-(DN) α β T 細胞増多である。成人期に呼吸機能不全で死亡したものから軽症、無症状まで重症度は様々である。診断基準案として、CD4 陽性細胞数が正常で CD8 陽性細胞が完全欠損し、CD8A 遺伝子に既報の Gly111Ser 変異がある場合に CD8 欠損症と診断することとし、未報告の CD8A 遺伝子の変異ある場合には疾患との関連性評価が必要とした。CD8 陽性細胞が部分欠損の場合は、CD8 陽性細胞が部分欠損する責任遺伝子も解析することが必要である。

A. 研究目的

本研究では CD8 欠損症に関して、診断基準を作成することが目的である。

B. 研究方法

文献検索システムを用いて、CD8 欠損症に関する過去の文献的報告を検討し、臨床所見、検査所見を取りまとめ、診断基準案を策定した。

C. 研究結果

以下のように調査検討結果をまとめた。

疾患名(日本語)： CD8 欠損症

疾患名(英語)： CD8 deficiency

OMIM 番号： 608957

Gene MIM number: 186910

疾患概要

CD8 欠損症は CD8 α サブユニットをコードする遺伝子 *CD8A* の異常によって CD8 発現が欠損し、主に呼吸器系の細菌感染を反復する原発性免疫不全症である。常染色体連鎖劣性遺伝形式をとる。

【診断方法】

1. 臨床症状

小児期から特に呼吸器系の細菌感染を反復するが、易感染性の程度は症例により異なるのが特徴である。報告例では成人期に呼吸機能不全で死亡したものから軽症、無症状まで様々である。

2. 検査所見

- a. CD8 陽性細胞の完全欠損、CD4 陽性細胞数正常
- b. CD4-CD8-(DN) $\alpha\beta$ T 細胞分画増多
- c. 抗 CD3 抗体刺激や PHA 刺激に対するリンパ球幼若化反応は正常
- d. *CD8A* 遺伝子のホモ変異 (c.331G>A, p.G111S)

3. 補助条項

なし。

4. 診断の進め方 (フローチャート参照)

易感染性を呈し、CD8 欠損症を疑った場合、リンパ球の解析を行う。CD4 陽性細胞数が正常、CD8 陽性細胞の完全欠損を認めたら、*CD8A* 遺伝子検査に進む。*CD8A* に既報の Gly111Ser 変異を両アレルに認めた時に CD8 欠損症と診断する。*CD8A* に未報告の変異を認めた場合、疾患との関連性を評価する。また CD8 陽性細胞の部分欠損を認めた場合には *CD8A* 以外にも *ZAP70*、*TAP1*、*TAP2*、*TAPBP*、*B2M* など CD8 陽性細胞の欠損を来す責任遺伝子の解析を行う。

リンパ球表面抗原の特徴

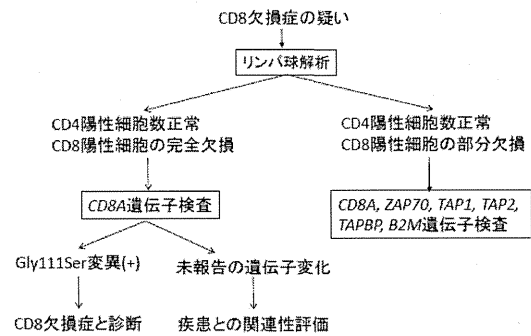
CD8 欠損症：DN $\alpha\beta$ T 細胞増多、抗 CD3 抗体刺激に正常に反応する。

ZAP70 欠損：CD8+細胞は欠損又は減少し、CD4+が CD3+細胞の大部分を占める。PHA や CD3 抗体刺激に低反応を示す。

TAP 欠損症：CD8+ $\alpha\beta$ T 細胞は減少し、NK 細胞と $\gamma\delta$ T 細胞が増加する。

β 2mg 欠損症：報告例では CD8+ $\alpha\beta$ T 細胞欠損するが、CD8+ $\gamma\delta$ T 細胞が著増するため、CD8+T 細胞の総和は正常である。

<CD8 欠損症の診断フローチャート>



5. 診断基準

- a. CD4 陽性細胞数が正常で CD8 陽性細胞が完全欠損し、両アレルの *CD8A* 遺伝子に既報の Gly111Ser 変異がある場合に CD8 欠損症と診断する。
- b. 未報告の *CD8A* 遺伝子の変異ある場合には疾患との関連性評価が必要である。
- c. CD8 陽性細胞が部分欠損の場合は同様に CD8 陽性細胞が部分欠損する責任遺伝子も解析することが必要である。

6. 重症度分類：報告症例が限られており、現段階での重症度分類は困難である。

7. 参考文献

- 1) de la Calle-Martin O, Hernandez M, Ordi J, et al: Familial CD8 deficiency due to a mutation in the CD8 alpha gene. J Clin Invest.2001;108:117-123.
- 2) Mancebo E1, Moreno-Pelayo MA, Mencía A, et al: Gly111Ser mutation in CD8A gene causing CD8 immunodeficiency is found in Spanish Gypsies. Mol Immunol.2008;45:479-484.
- 3) Dumontet E, Osman J, Guillemont-Lambert N, et al: Recurrent Respiratory Infections Revealing CD8 α Deficiency. J

Clin Immunol.2015;35:692-695.

D. 考察

本疾患では呼吸不全による死亡例から無症状例まで幅広い表現型があり、また症例数が非常に限られているため、免疫学的所見を含めた臨床像の重症度やスペクトラムはさらに広い可能性がある。

E. 結論

CD8 欠損症について、診断基準案を作成した。

F. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

該当なし

2.実用新案登録

該当なし

3.その他

該当なし

複合免疫不全症
ZAP70 欠損症の診断基準の作成

研究分担者 森尾友宏 東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野

研究要旨

ZAP70 欠損症は比較的まれな疾患であり、国内外に診断ガイドラインは存在しない。そこで、我々は診断基準および診断フローチャートを作成した。易感染性や体重増加不良といった臨床症状をもつ症例に対して、CD8⁺T 細胞数を評価することで比較的容易に疾患のスクリーニングが可能で、遺伝子解析によって最終的に確定する。

A. 研究目的

原発性免疫不全症の分類のうち、複合免疫不全症に含まれる ZAP70 欠損症の診断基準および診断フローチャートの作成を目的とした。

B. 研究方法

ZAP70 欠損症に関する過去の原著論文や症例報告をもとに、診断基準を本研究で統一された形式で作成した。

C. 研究結果

疾患基準及び診断フローチャートを示す。

疾患名(日本語) : ZAP70 欠損症

疾患名(英語) : ZAP70 deficiency

OMIM 番号:176947

疾患概要

ZAP70 (zeta-chain associated protein kinase, 70 kd) 欠損症は、CD4⁺T 細胞の機能不全と CD8⁺T 細胞の欠損を伴う複合免疫不全症で、原因遺伝子は ZAP70 である。ZAP70 は T 細胞受容体の刺激伝達に関わるチロシンキナーゼである。

【診断方法】

A. 臨床症状

1. 易感染性
2. 体重増加不良

B. 検査所見

1. T 細胞数の軽度の低下と CD8⁺T 細胞の欠損。
2. T 細胞の CD3 抗体刺激に対する反応低下。
イオノマイシンに対する反応は正常。

C. 補助条項

1. 乳児期以降の生存例では自己免疫疾患を合併することがある。
2. まれに部分的機能低下型変異によって、軽症の表現型を示す場合もある。

D. 診断の進め方（フローチャート参照）

CD8⁺T 細胞が完全に 0 でなくても、CD8⁺T 細胞が低下している場合は ZAP70 蛋白発現や遺伝子変異を確認する。ZAP70 蛋白発現解析は診断に有用であるが、本邦においてセットアップしている施設は限られるため必須ではない。

E. 診断基準

臨床症状と検査所見を満たし、ZAP70 遺伝子変異がある場合に ZAP70 欠損症と診断する。ZAP70 遺伝子変異は常染色体劣性遺伝形式をとる。

文献

1. Fischer A, Picard C, Chemin K,

Dogniaux S, le Deist F, Hivroz C.

ZAP70: a master regulator of adaptive immunity. *Semin Immunopathol* 2010; 32: 107-16.

2. Roifman CM, Dadi H, Somech R, Nahum A, Sharfe N. Characterization of ζ -associated protein, 70 kd (ZAP70)-deficient human lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 1226-33.

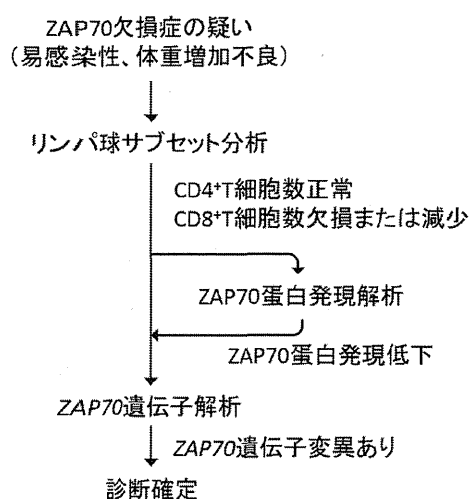
F. 研究発表

当研究に直接関連した発表はない。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

図 1. 診断フローチャート



D. 考察

ZAP70 欠損症は早期に診断しなければ致死的となるが、造血幹細胞移植が根治療法として確立されているため早期の診断は重要である。また、リンパ球サブセット解析で CD8+T 細胞数を評価することで、比較的容易に疾患をスクリーニングすることができる。

E. 結論

ZAP70 欠損症の診断基準を作成した。今後、症例の蓄積によって本診断基準の妥当性を評価したい。

免疫不全を伴う特徴的な症候群
DiGeorge 症候群の診断基準の作成

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授
研究協力者 村松秀城 名古屋大学医学部附属病院小児科 助教

研究要旨：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にあたり、胸腺低形成 (DiGeorge 症候群, 22q11.2 欠失症候群) を担当した。DiGeorge 症候群は、胚形成初期における第 3 および第 4 咽頭嚢の異常形態発生が原因であり、胸腺低形成による易感染性、副甲状腺低形成による低 Ca 血症、特異的顔貌と先天性心疾患を伴う症候群である。診断基準作成にあたっては、これまでの文献知見をまとめた上で、欧州免疫不全症学会 (ESID) における診断基準を参考にした。名古屋大学医学部附属病院小児科およびその協力施設において 22q11.2 領域の染色体欠失が証明された 30 症例を DiGeorge 症候群の診断基準に照らし合わせて後方視的に検討したところ、3 症例が完全型もしくは部分型 DiGeorge 症候群と診断された。

A. 研究目的

原発性免疫不全症候群の一つである、胸腺低形成 (DiGeorge 症候群, 22q11.2 欠失症候群) の診断基準・重症度分類および診療ガイドライン作成することが目的である。

B. 研究方法

胸腺低形成 (DiGeorge 症候群, 22q11.2 欠失症候群) に関してこれまでに得られている臨床知見に基づいて、診断基準を策定した。

また、名古屋大学医学部附属病院小児科およびその協力施設 36 病院において G 分染法または FISH 法にて染色体 22q11.2 領域の欠失が証明された 30 症例を DiGeorge 症候群の診断基準に照らし合わせて後方視的に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもと、患者および患者保護者の同意を取得して行った。

C. 研究結果

●診断基準

CD3 陽性 T 細胞数の低下、胸腺無形成、低 Ca 血症、先天性心疾患を伴うものを DiGeorge 症候群と診断する。完全型 DiGeorge 症候群と部分型 DiGeorge 症候群の診断基準は表 1 に記載する。

●22q11.2 欠失症候群の後方視的解析

先天性心疾患は 30 例中 27 例 (90%)、低 Ca 血

症は情報が得られた 23 例中 13 例 (57%) で認められた。胸部単純 X 線検査で 21 例中 10 例 (52%) で胸腺の無または低形成が認められた。

診断時の白血球数中央値 (範囲) は 9050 (5100~16600) / μ L (n = 28) であった。リンパ球数の中央値 (範囲) は 3210 (588~5700) / μ L (n = 28) で、リンパ球数 1500/ μ L 未満を 1 例認めた。CD3 陽性 T 細胞数の中央値 (範囲) は 1448 (26~3998) / μ L (n=8) で、CD3 陽性 T 細胞数 1500/ μ L 未満を 4 例認めた。うち診断時の年齢が 3 歳未満は 2 例であった (図 1)。

以上の結果より 30 症例中 3 症例 (10%) が完全型もしくは部分型 DiGeorge 症候群と診断された。

D. 考察

22q11.2 欠失症候群は症状が多彩であるため、DiGeorge 症候群の定義を満たす高度の免疫機能低下が見落とされている症例もあり、免疫学的なスクリーニングの周知が重要であると考えられた。本研究でも、多数の症例で診断に必要な CD3 陽性 T 細胞数が測定されていなかった。完全型 DiGeorge 症候群は重度の免疫不全により予後不良の疾患であるが、T 細胞の産生の指標である T-cell receptor excision circles (TREC) の定量解析によりスクリーニングが可能であり、本邦においても TREC による新生児マススクリーニングの導入が求められる。

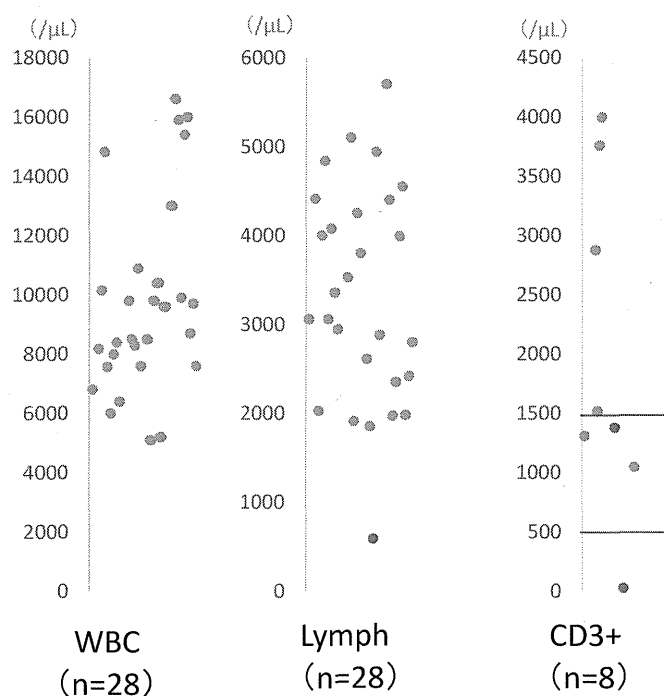
E. 結論

DiGeorge 症候群の診断基準を作成した。

表 1. DiGeorge 症候群の診断基準

分類	区分	
部分型 DiGeorge 症候群	Definitive	3 歳未満で CD3 陽性 T 細胞数が 500/ μ L 未満となり、染色体 22q11.2 領域の欠損と関連する円錐動脈幹心奇形または低 Ca 血症を認める。
	Probable	3 歳未満で CD3 陽性 T 細胞数が 1500/ μ L 未満となり、染色体 22q11.2、10p13-14、18q21.33、4q21.3-q25 領域の欠損または <i>CHD7</i> 遺伝子変異を認める。
	Possible	3 歳未満で CD3 陽性 T 細胞数が 1500/ μ L 未満となり、先天性心疾患もしくは低 Ca 血症もしくは顔貌/口蓋の奇形を認める。
完全型 DiGeorge 症候群	Definitive	CD3 陽性 T 細胞数が 50/ μ L 未満かつ胸腺無形成、低 Ca 血症、先天性心疾患を認める。

図 1. 診断時の検査所見



F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yang X, Hoshino A, Taga T, Kunitsu T, Ikeda Y, Yasumi T, Yoshida K, Wada T, Miyake K, Kubota T, Okuno Y, Muramatsu H, Adachi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H. A female patient with incomplete hemophagocytic lymphohistiocytosis caused by a heterozygous XIAP mutation associated with non-random X-chromosome inactivation skewed towards the wild-type XIAP allele. *Journal of clinical immunology* 2015;35:244-248.
- 2) Yamaguchi H, Sakaguchi H, Yoshida K, Yabe

M, Yabe H, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Yui S, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Inokuchi K, Ito E, Ogawa S, Kojima S. Clinical and genetic features of dyskeratosis congenita, cryptic dyskeratosis congenita, and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome in Japan. *International journal of hematology* 2015;102:544-552.

- 3) Wang X, Muramatsu H, Okuno Y, Sakaguchi H, Yoshida K, Kawashima N, Xu Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Saito S, Nakazawa Y, Masunari T, Hirose T, Elmahdi S, Narita A, Doisaki S, Ismael O, Makishima H, Hama A, Miyano S, Takahashi Y, Ogawa S, Kojima S. GATA2 and secondary mutations in familial myelodysplastic syndromes and pediatric myeloid malignancies. *Haematologica* 2015;100:e398-401.
- 4) Shiota M, Yang X, Kubokawa M, Morishima T, Tanaka K, Mikami M, Yoshida K, Kikuchi M, Izawa K, Nishikomori R, Okuno Y, Wang X, Sakaguchi H, Muramatsu H, Kojima S, Miyano S, Ogawa S, Takagi M, Hata D, Kanegane H. Somatic mosaicism for a NRAS mutation associates with disparate clinical features in RAS-associated leukoproliferative disease: a report of two cases. *Journal of clinical immunology* 2015;35:454-458.
- 5) Okuno Y, Hoshino A, Muramatsu H, Kawashima N, Wang X, Yoshida K, Wada T, Gunji M, Toma T, Kato T, Shiraishi Y, Iwata A, Hori T, Kitoh T, Chiba K, Tanaka H, Sanada M, Takahashi Y, Nonoyama S, Ito M,

Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H. Late-Onset Combined Immunodeficiency with a Novel IL2RG Mutation and Probable Revertant Somatic Mosaicism. *Journal of clinical immunology* 2015;35:610-614.

- 6) Kataoka S, Muramatsu H, Okuno Y, Hayashi Y, Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Kobayashi M, Sano C, Sato H, Oh-Iwa I, Ito M, Kojima D, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Extrapulmonary tuberculosis mimicking Mendelian susceptibility to mycobacterial disease in a patient with signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gain-of-function mutation. *J Allergy Clin Immunol* 2015.

2. 学会発表

- 1) Muramatsu H. Comprehensive Molecular Screening System for Pediatric Bone Marrow Failure Syndromes. 第6回日本血液学会国際シンポジウム. 2015年5月23日. 軽井沢
- 2) Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraiishi Y, Doisaki S, Narita A, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Sekiya Y, Chiba K, Tanaka H, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Ogawa S, Miyano S, Kojima S. Target gene sequencing for genetic diagnosis of congenital bone marrow failure syndromes. 先天性骨髄不全症の遺伝子診断におけるターゲットシーケンスの臨床的有用性. 第77回日本血液学会学術集会. 2015年10月17日. 金沢
- 3) 小島大英、奥野友介、王希楠、村松秀城、村上典寛、鈴木喬悟、関屋由子、川島希、谷口理恵子、秋田直洋、成田敦、亀井美智、土居崎小夜子、西尾信博、濱麻人、高橋義行、小島勢二. Utility of targeted next-generation sequencing in diagnosis of primary immunodeficiencies. 原発性免疫不全症候群の診断における次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスの有用性. 第57回日本小児血液・がん学会学術集会. 2015年11月29日. 甲府
- 4) 小島大英、片岡伸介、濱田太立、村上典寛、関屋由子、鈴木喬悟、市川大輔、川島希、西川英理、谷口理恵子、成田敦、亀井美智、村松秀城、西尾信博、濱麻人、高橋義行、小島勢二. 名古屋大学附医学部属病院における原発性免疫不全症に対する同種造血細胞移植の検討. 第38回日本造血細胞移植学会総会.

2016年3月4日. 名古屋

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

原発性食細胞機能不全症および欠損症
 白血球接着不全症の診断基準

研究代表者 布井 博幸 宮崎大学医学部
 研究分担者 西村 豊樹 宮崎大学医学部

研究要旨：白血球接着不全症 (Leukocyte adhesion deficiency; LAD) はβ2 インテグリンの発現異常 (LAD-I ; *INTGB3* 変異)、活性化障害 (LAD-III ; *KINDLIN3* 変異) やセレクチンリガンドの糖鎖修飾障害 (LAD-II ; *FUCT1* 変異) により、白血球における接着不全をきたす常染色体劣性遺伝性疾患である。生後早期からの細菌感染症、非化膿性の皮膚感染症、臍帯脱落遅延、歯肉炎、歯周囲炎を基本とする病態を示し、白血球異常高値、白血球粘着能、走化能、貪食能低下を示す疾患である。この基本病態に加え、LAD-II/-III では出血傾向や大理石病など特異的臨床症状が加わってくる。

A. 研究目的

白血球は、血球表面に発現する s-Lex (CD15a) が血管内皮に発現している E-selectin を認識し、血管内面を Rolling する。さらに種々の炎症刺激 (IL-8 などのケモカイン) により、Kindlin3 や Talin がリン酸化され、β2 インテグリン蛋白の細胞内ドメインに結合し、活性化 (Inside out pathway) ことにより、血管内皮の ICAM-1 を認識し、強固な接着分子を形成し、さらにケモカイン (IL-8 など) により、血管内皮間を通過して組織内へと浸潤する¹⁾。

今回、白血球接着不全症 (Leukocyte adhesion deficiency; LAD) の病型分類を明らかにすることにより、同疾患の診断基準、重症度分類が可能になり、より根拠のある診療の手引きを作成することを目的としている。

B. 研究方法

1. 症状

1. 乳児期より化膿性皮膚炎、リンパ節炎、肺炎、中耳炎、肝膿瘍、肛門周囲膿瘍などを繰り返す難治性細菌または真菌感染症を認める。BCG 接種後所属リンパ節時に全身のリンパ節炎を惹起することがある (BCGitis)
2. 上記部位での病理検査で肉芽腫形成を認める
3. しばしば難治性腸炎を併発する。

2. 検査所見

- 1) 生後早期からの細菌感染症
 - 2) 非化膿性の皮膚感染症、臍帯脱落遅延、歯肉炎、歯周囲炎
- 上記の臨床症状に加え、
- 3) 白血球異常高値
 - 4) 粘着能、遊走能、貪食能の低下
- の検査所見があれば、下記の各々のFACS検査を加え、typeを考え以下の遺伝子検査を行う。
- 5) CD11/18の欠損の場合は*INTGB3*遺伝子変異を確認することで、LAD type Iと診断する。
 - 6) anti-CD15 (Le^x, SLe^x) 抗体陰性で発達遅滞を伴う場合は*FUCT1* (*SLC35C1*) 遺伝子変異が確認されるとLAD type IIと診断する。
 - 7) 出血傾向 (血小板粘着能検査) がある場合、*KINDLIN3* 遺伝子変異が確認されるとLAD type IIIと診断する。

	Normal	LAD-I	LAD-II	LAD-III
β2インテグリン	+	または低下	±	In side out シグナル欠損
セレクチンリガンド	+		フコシル化欠損	+
Kindlin3	+			欠損
異常機能	正常	組織受入時の強い結合	血管上流のローリング欠損	インテグリン活性化欠損
変異遺伝子		<i>ITGB2</i>	<i>SLC35C1</i>	<i>KINDLIN3</i>

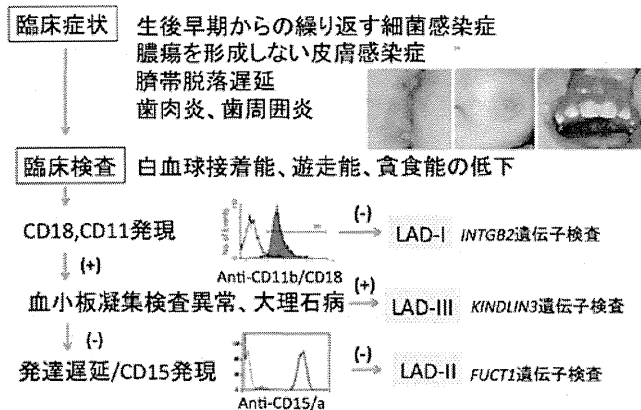
3. 補助条項

1. 反復する表皮の非化膿性難治性感染の病歴
2. 家系図の確認

C. 研究結果

診断の進め方 (フローチャート参照)

上記の臨床症状と検査所見があれば、下記のフローチャートに従い、臨床症状と FACS 検査を加え、遺伝子検査を行い、診断する。



D. 考察

診断基準については、上記のように、基本的な臨床症状と検査所見を満たし、FACS 解析で CD18/CD11 発現が FACS 検査で認められない場合は、LAD-I を疑い、*INTGB3* 遺伝子変異解析を行う。CD18 の発現は重症度とも関係しているが、正確な診断のためには好中球、リンパ球、単球での CD11a 発現がより低下するので、有用である²⁾。さらに、発達遅滞があり、CD15 (Le^x, SLe^x) 発現が FACS 検査で認められない場合 LAD-II を疑い *FUCT1* 遺伝子変異解析を行う。基本症状に加え、出血傾向と大理石病が認められる場合、LAD-III を疑い、血小板粘着能検査と *KINDLIN3* 遺伝子変異解析を行う。遺伝子変異が確定できた場合に確定診断となる。

重症度分類については、LAD-I の場合、CD18/CD11 発現が 2-30% の場合、軽症から中等症と考えられ、抗生剤治療で対症的治療がされている。2% 以下では重症例と考えられ、根治療法としては造血幹細胞移植が必要である³⁾。

LAD-II は LAD-I に比べ、白血球の血管内皮とのローリングが障害されているものの、感染症としては軽症の場合が多いとされる。学術的には、糖鎖修飾障害 (Congenital disorder of glycosylation type IIc; CDG2c) の分類とされ、低身長と自閉的特徴を持つ発達遅延や時に精神発達遅延が認められ、成人期の歯周炎がその主体となることもある^{4, 5)}。この疾患はこれまでアラブ及びイスラエルからの報告である。ゲノム比較では R147C 変異と T308R 変異では後者は歯周炎が主体の感染性だが、重度の精神発達があり、フコース添加治療に反応していな

い⁶⁾。

LAD-III では LAD-I の症状に加え、白血球と血小板の異常から出血症状を呈する⁷⁾。3種のインテグリン (ITGB1, 2, 3) の活性化が惹起されないため、好中球やリンパ球の内皮細胞への接着が障害されており、同時に血小板数は正常だが出血傾向が強く、また osteoclast 機能障害により大理石病様症状が生後 5 ヶ月で認められている。継続的な感染症、湿疹及び出血傾向などの合併症に対する予防が必要であるが、骨髄移植で改善している。トルコ、アラブ、アフリカ出身の米国人での報告はあるが、日本からは報告されていない。

発生頻度については、LAD-I は欧米で 10 万人に 1 人の発生頻度と言われているが、日本ではこれまで 7 家系 8 名 (山口、宮崎 2 例、東北、金沢、大阪、静岡、千葉) の報告があるが、正確な報告はまだない。欧州では 1969-1985 年間に 162 例の骨髄移植が報告されているが⁸⁾ 日本では 4 例で施行されている^{9, 10, 11, 12)}。

LAD-II、LAD-III はトルコ、アラブ、アフリカを中心とした中東の血族結婚による症例報告されている。日本からの報告はない。

E. 結論

好中球粘着不全症は血球と血管内皮細胞との接着機序の解明につながり、臨床的にも骨髄移植が有効であることも証明されてきており、日本では稀であるが、免疫不全患者の診断は重要である。

参考文献

- 1) Etzioni, A., Harlan, J. M. Cell adhesion and leukocyte adhesion defects. In: Ochs, H. D.; Smith, C. I. E.; Puck, J. M. (eds.) : Primary Immunodeficiency Diseases: A Molecular and Genetic Approach. New York: Oxford University Press 1999. Pp. 375-388.
- 2) Levy-Mendelovich S, et al., Highlighting the problematic reliance on CD18 for diagnosing leukocyte adhesion deficiency type 1. Immunol Res. 2015 Oct 5.
- 3) Anderson, D. C., et al., The severe and moderate phenotypes of heritable Mac-1, LFA-1 deficiency: their quantitative definition and relation to leukocyte dysfunction and clinical features. J. Infect. Dis. 152: 668-689, 1985.
- 4) Etzioni, A., et al., Recurrent severe infections caused by a novel leukocyte adhesion deficiency. New Eng. J. Med. 327: 1789-1792, 1992.
- 5) Lubke, T., et al., A new type of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome due to

- a decreased import of GDP-fucose into the Golgi. *J. Biol. Chem.* 274: 25986-25989, 1999.
- 6) Etzioni, A., Tonetti, M. Leukocyte adhesion deficiency II--from A to almost Z. *Immun. Rev.* 178: 138-147, 2000.
 - 7) McDowall, A., et al., A novel form of integrin dysfunction involving beta-1, beta-2, and beta-3 integrins. *J. Clin. Invest.* 111: 51-60, 2003.
 - 8) Fischer, A. et al., Bone-marrow transplantation for immunodeficiencies and osteopetrosis: European survey, 1968-1985. *Lancet* 328: 1080-1084, 1986.
 - 9) Kobayashi, K., et al., An abnormality of neutrophil adhesion: autosomal recessive inheritance associated with missing neutrophil glycoproteins. *Pediatrics* 73: 606-610, 1984.
 - 10) Matsuura, S., et al., Leukocyte adhesion deficiency: identification of novel mutations in two Japanese patients with a severe form. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 184: 1460-1467, 1992.
 - 11) Tsruta, S. et al., Successful human leukocyte antigen one antigen-mismatched related bone marrow transplantation in a 6-year-old boy with leukocyte adhesion deficiency syndrome. *Pediatrics International* (2001) 43, 306-309
 - 12) Yoshimoto A. et al., Successful allogeneic stem cell transplant for leukocyte adhesion deficiency using an adjusted busulfan-containing regimen. *Pediatr Transplantation* 2007;11:453-455.
- F. 研究発表
1. Role of the neural pathway from hindbrain to hypothalamus in the regulation of energy homeostasis in rats. Utoyama M, Akieda-Asai S, Koda S, **Nunoi H**, Date Y. *Neurosci Lett.* 2016 Jan 8;614:83-88.
 2. Clinical and histological findings of autosomal dominant renal-limited disease with LMX1B mutation. Konomoto T, Imamura H, Orita M, Tanaka E, Moritake H, Sato Y, Fujimoto S, Harita Y, Hisano S, Yoshiura KI, **Nunoi H**. *Nephrology (Carlton)*. 2015 Nov 11.
 3. Sporadic paraganglioma caused by de novo SDHB mutations in a 6-year-old girl. Imamura H, Muroya K, Tanaka E, Konomoto T, Moritake H, Sato T, Kimura N, Takekoshi K, **Nunoi H**. *Eur J Pediatr.* 2016 Jan;175(1):137-41.
 4. Analysis of the molecular mechanism underlying bone marrow necrosis with acute lymphoblastic leukemia. Moritake H, Obara M, Sameshima N, Asada Y, Komatsu H, Hyakuna N, Sugita K, Ishida Y, Kato M, Tanizawa A, Deguchi T, Imamura T, Kitanaka A, Shimoda K, Kamimura S, **Nunoi H**. *Int J Hematol.* 2015 Sep;102(3):349-56.
 5. Leopard Skin-Like Colonic Mucosa: A Novel Endoscopic Finding of Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis. Obayashi N, Arai K, Nakano N, Mizukami T, Kawai T, Yamamoto S, Shimizu H, **Nunoi H**, Shimizu T, Tang J, Onodera M. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Jan;62(1):56-9.
 6. Exon skipping causes atypical phenotypes associated with a loss-of-function mutation in FLNA by restoring its protein function. Oda H, Sato T, Kunishima S, Nakagawa K, Izawa K, Hiejima E, Kawai T, Yasumi T, Doi H, Katamura K, Numabe H, Okamoto S, Nakase H, Hijikata A, Ohara O, Suzuki H, Morisaki H, Morisaki T, **Nunoi H**, Hattori S, Nishikomori R, Heike T. *Eur J Hum Genet.* 2015 Jun 10.
 7. Familial C3 glomerulonephritis associated with mutations in the gene for complement factor B. Imamura H, Konomoto T, Tanaka E, Hisano S, Yoshida Y, Fujimura Y, Miyata T, **Nunoi H**. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 May;30(5):862-4.
 8. Novel human homologues of p47phox and p67phox participate in activation of superoxide-producing NADPH oxidases. Takeya R, Ueno N, Kami K, Taura M, Kohjima M, Izaki T, **Nunoi H**, Sumimoto H. *J Biol Chem.* 2015 Mar 6;290(10):6003.
- G. 知的財産権の出願・登録状況
特になし。

原発性食細胞機能不全症および欠損症
シュワツハマン・ダイヤモンド症候群の診断基準案作成

中畑龍俊(京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門)

斎藤潤(京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門)

渡邊健一郎(静岡県立こども病院血液腫瘍科)

研究要旨

シュワツハマン・ダイヤモンド (Shwachman-Diamond) 症候群 (SDS, OMIM: 260400) は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする常染色体劣性遺伝先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害を伴うことも多く、骨髄異形成症候群および急性骨髄性白血病を発症しやすい。本症候群と診断された患者の 90% に SBDS 遺伝子の変異が認められる。本研究では SDS に関する過去の文献的報告より臨床徴候をとりまとめ、過去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。SDS の診断根拠として、①好中球減少、②血球減少、③膵外分泌不全、④SBDS 遺伝子変異を考慮する必要があると考えられた。

A. 研究の目的

シュワツハマン・ダイヤモンド (Shwachman-Diamond) 症候群 (SDS, OMIM: 260400) は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする常染色体劣性遺伝先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害を伴うことも多く、骨髄異形成症候群および急性骨髄性白血病を発症しやすい。本症候群と診断された患者の 90% に SBDS 遺伝子の変異が認められる。本研究では、SDS の診断基準案を作成することを目的とする。

B. 研究方法

SDS に関する過去の文献的報告より臨床徴候をとりまとめ、2012 年に発表された Draft consensus guidelines for diagnosis

and treatment of Shwachman-Diamond syndrome (Dror et al., Ann. N.Y. Acad. Sci, 2011) 及び厚生労働省「先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診療ガイドラインの作成に関する研究班 (代表: 弘前大学小児科・伊藤悦郎先生) において 2014 年に作製された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。

(倫理面への配慮) 文献的考察であり、倫理的に重大な問題は生じない。

C. 研究結果

以下の様に診断基準案・フローチャートを策定した。除外すべき疾患や研究班での議論等を踏まえて今後作成していく予定である。

C-1. 診断基準案

臨床所見としては、好中球を主体とした血球減少、慢性下痢、発育不良を認める。骨髄不全を認め、以下の一つ以上を満たす。

1) 絶対数 $1,500/\mu\text{L}$ 未満の好中球減少(間欠的あるいは慢性的; 少なくとも3ヶ月間隔で2回)

2) 血球産生低下による血球減少(貧血、血小板減少、汎血球減少; 少なくとも3ヶ月間隔で2回)

3. 膵外分泌不全を認め、以下の一つ以上を満たす。

1) 膵外分泌酵素低値

3歳未満でトリプシノーゲン低値
かつ/または

3歳以上で膵型アミラーゼ低値

2) 画像(超音波、CT、MRI)で小型あるいは脂肪の多い膵を認める。

3) 便中脂質の増加(72時間収集)

4. 膵外分泌不全と骨髄不全の原因となる他疾患を除外する。注1)

5. 以下の所見があれば確実性が増す。

1) 一等親に本症候群と診断された家族がいる。

2) 骨格異常

3) 行動異常

4) 年齢別正常値と比較したMCV高値(ただし溶血や栄養不良等による他の原因によらない)

5) ヘモグロビンF高値

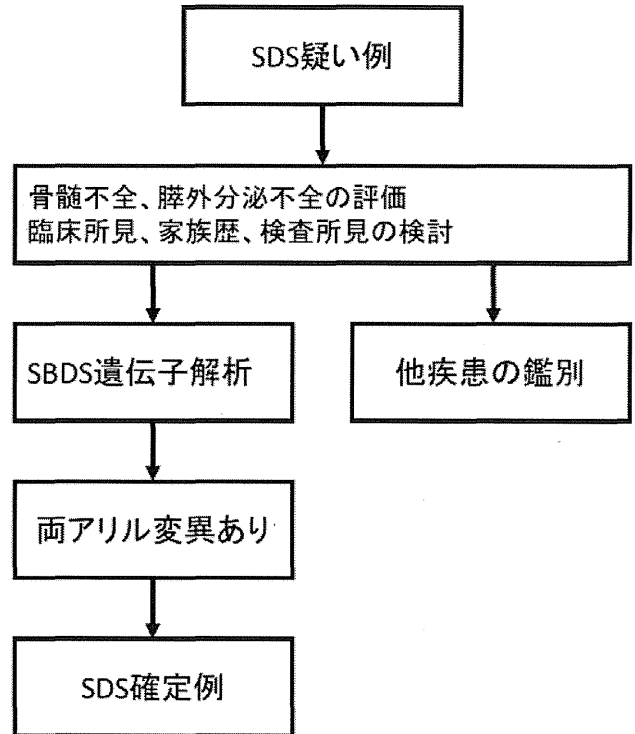
6) 骨髄検査で白血病あるいは骨髄異形成症候群と診断される、あるいは染色体異常を認める。

7) SBDS 遺伝子変異を両アレルに認める。

8) 好中球遊走能低下を認める。

6. 診断に際しては、1、2および3によって本症を疑い、4によって他の疾患を除外し、5によって診断をさらに確実なものとする。

C-2. フローチャート



D. 考察

SDSについては、原因遺伝子がSBDSと特定されており、遺伝子診断が有用であるが、一部(10%程度)の症例では遺伝子変異を認めない。SDSを疑う場合、造血不全から疑う場合と、膵外分泌障害に伴う症候から疑われる場合がある。前者の場合、造血不全疾患との鑑別が必要となり、後者ではPearson症候群や嚢胞線維症などの先天性膵外分泌異常症との鑑別が必要となる。

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。

E. 結論

上記結果で示したように、SDS 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。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

原発性食細胞機能不全症および欠損症
ミエロペルオキシダーゼ欠損症の診断基準の作成について

研究分担者 谷内江 昭宏
研究協力者 和田 泰三、村岡 正裕、東馬 智子

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科小児科

研究要旨

ミエロペルオキシダーゼ欠損症 (Myeloperoxidase deficiency: MPO 欠損症) は、好中球ならびに単球 lysosome 顆粒酵素の一つである MPO の欠損のため殺菌能が低下する疾患である。常染色体性劣性遺伝形式を示し、原因遺伝子は 17 番染色体長腕上にある MPO である。カンジダに対する易感染性を特徴とするが、無症状で経過し偶然発見される症例が多いことが知られている。約 5% の例でカンジダ症を認めるとされる。それ以外の易感染性は知られていない。PO 活性を用いる白血球分画検査では、MPO 活性のない異常な分画として認識される。この際、好酸球 PO 活性が正常であることが特徴である。末梢血スミアを用いた MPO 染色は陰性となる。好中球殺菌能における MPO の役割は補助的であり、この欠損によりカンジダ症以外の感染症が重篤化することはない。カンジダ症を合併した場合には適切な抗真菌剤による治療が必要となるが、それ以外の場合には特別の治療を要しない。本研究では、国内外でこれまで集められた知見をもとに、MPO 欠損症の診断基準の作成を行った。診断基準の整備により質の高いエビデンスが収集可能となると考えられた。

A. 研究目的

ミエロペルオキシダーゼ (Myeloperoxidase: MPO) は、好中球および単球の細胞質内顆粒に存在する酵素タンパクである。活性酸素の代謝酵素として、NADPH オキシダーゼで産生されたスーパーオキシドが過酸化水素に変換され、次亜塩素酸が産生される反応を触媒する。したがって、先天的に MPO が欠損すると殺菌能の低下が引き起こされる可能性がある。ただし、MPO 欠損症では、同じ殺菌能の異常に起因する慢性肉芽腫症と異なり、重篤な感染症を認めることはまれである。約 5% の患者でカンジダ感染を認めるが、無症状で経過し偶然発見されることが多い。

MPO 欠損症は常染色体劣性遺伝形式を示し、その頻度は米国では、MPO 完全欠損が 4000 人に 1 人、部分欠損が 2100 人に 1 人とされる。我が国では完全欠損は 57135 人に 1 人、部分欠損は 17501 人に 1 人と米国に比べ発生頻度は低いものの、他の免疫不全症に比べると高い頻度の疾患といえる。

近年、自動白血球分類機は、ペルオキシダーゼの染色性により好中球を識別するため MPO 欠損症が発見されやすい環境にある。しかしこれまで MPO 欠損症の診断基準は十分に整備されていなかった。本研究では、的確な診断に基づいた標準的な医療を提供するために、MPO 欠損症の診断基準の作成を行った。

B. 研究方法

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

C. 研究結果

MPO 欠損症診断基準

1) 疾患概要

MPO 欠損症は、好中球ならびに単球 lysosome 顆粒酵素の一つであるミエロペルオキシダーゼの欠損のため殺菌能が低下する疾患である。常染色体性劣性遺伝で、原因遺伝子は 17 番染色体長腕上にある MPO である。カンジダに対する易感染性を特徴とするが、無症状で経過し偶然発見される症例が多いことが知られている。好酸球ペルオキシダーゼは正常に認められる。

2) 診断方法

【臨床症状】

①易感染性；約 5%の例でカンジダ症を認めるとされる。それ以外の易感染性は知られていない。

【検査所見】

- ①ペルオキシダーゼ活性を用いる白血球分画定量検査では、MPO 活性のない、異常な顆粒球分画として認識される。
- ②末梢血スメアを用いた MPO 染色は陰性となる。

【補助条項】

- ①好中球殺菌能における MPO の役割は補助的であり、この欠損によりカンジダ症以外の感染症が重篤化することはないと考えられる。
- ②カンジダ症を合併した場合には適切な抗真菌剤による治療が必要となるが、それ以外の場合には特別の治療を要しない。
- ③DHR123 法で殺菌能の著しい低下が認められる場合があり、CGD との鑑別を要する。

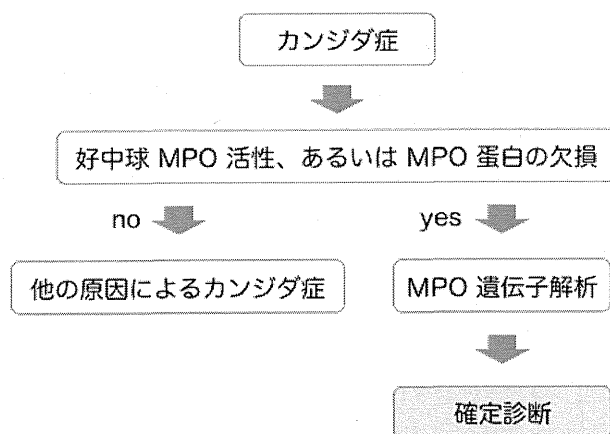
【診断の進め方】

日常的な血液検査で偶然発見されることが多いが、カンジダ症の場合にはその背景となる多様な疾患の一つとして鑑別対象となる。

【診断基準】

カンジダ症患者で、好中球 MPO 活性が欠損、あるいは MPO 染色が陰性である場合、MPO 遺伝子解析により確定診断する。

図 1. MPO 欠損症 診断フローチャート



D. 考察

MPO 欠損症は、高頻度でみられる疾患であるが、多くの場合は無症状で経過し、重篤な感染症の原因とならない。このため、2005 年の IUIS からは原発性免疫不全症の分類から除外されている。しかし、カンジダ症が重症化する症例も知られており、診断基準整備を含む、適切な診療体制の構築が望まれてきた。

今回、本研究班により MPO 診断基準が作成された。MPO 欠損症以外に殺菌能の低下する疾患は多数知られており、本診断基準が果たす役割は大きいと考えられる。また、本研究班は、原発性免疫不全症データベースである Immunodeficiency Database in Japan (PIDJ) (<http://pidj.rcai.riken.jp/>)やゲノム解析拠

点との連携により、確定診断に必須である原因蛋白の欠損や機能異常の証明、遺伝子解析などを担っている。このような診療体制の整備により、医療水準の向上、患者やその家族の生活の質の向上に寄与することが期待される。さらに近年、MPO 欠損症は、炎症性疾患や動脈硬化症など多彩な疾患との関連が指摘されている。今回の診断基準の整備により、易感染性以外に MPO 欠損が及ぼす病態への理解が進むことが期待される。

E. 結論

MPO 欠損症の診断基準の作成を行った。質の高いエビデンスが収集可能となり、診療ガイドライン確立に向けた基盤が整備された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wada T, Akagi T, Muraoka M, Toma T, Kaji K, Agematsu K, Koeffler HP, Yokota T, Yachie A. A novel in-frame deletion in the leucine zipper domain of C/EBP ϵ leads to neutrophil-specific granule deficiency. *J Immunol.* 2015;195:80-6.
- 2) Wada T, Toma T, Yasui M, Inoue M, Kawa K, Imai K, Morio T, Yachie A. Different clinical phenotypes in two siblings with X-linked severe combined immunodeficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol.* in press.

2. 学会発表

- 1) Wada T, Akagi T, Muraoka M, Toma T, Kaji K, Agematsu K, Koeffler HP, Yokota T, Yachie A. Aberrant expression of monocyte markers on granulocytes from patients with neutrophil-specific granule deficiency. 2015/4/16, Osaka, The 11th Congress of Asian Society for Pediatric Research.

- 2) 村岡正裕、小泉瑛子、松田裕介、和田泰三、東馬智子、谷内江昭宏、星野顕宏、金兼弘和. Atypical X-SCID から樹立した T 細胞株における変異型 γc 鎖の機能解析. 2015/10/30, 福島, 第 47 回日本小児感染症学会総会・学術集会.

G. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

原発性食細胞機能不全症および欠損症
メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症の診断基準の作成

研究分担者 峯岸克行¹

¹徳島大学疾患プログラム研究センター病態プログラム分野

研究要旨

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症は、BCG や NTM などの低病原性マイコバクテリアに対する選択的な易感染性を主徴とする原発性免疫不全症候群である。重症複合免疫不全症、慢性肉芽腫症等の免疫不全症においても BCG や NTM に対する易感染性が日和見感染症と 1 つの症状として認められるが、これらは本症には含まれない。最初に発見された IFNG のレセプターの欠損症は BCG や NTM の低病原性マイコバクテリアに対してのみ易感染性を呈したが、その後これに加えて、細胞内寄生細菌、カンジダ、ウイルス感染症に対する易感染性を合併する疾患群も同定され、どれを MSMD に含めて、どれを MSMD から除外するかに関しては世界的にも定説がない。そこで、本研究では、病態形成機構に基づいて MSMD を再分類し、臨床的に有用な診断基準を作成した。感染症起炎菌の正確な診断と免疫学的検査で本症の存在を疑い、遺伝子検査で確定診断する。

A. 研究目的

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症 (MSMD; Mendelian susceptibility to mycobacterial disease) は、BCG (bacillus Calmette-Guérin) や NTM (Non-tuberculous mycobacteria) などの低病原性マイコバクテリアに対する選択的な易感染性を主徴とする原発性免疫不全症である。1996 年に Casanova らにより最初の原因遺伝子 *IFNGR1* が同定された。当初は、BCG や NMT に選択的な易感染性を呈する疾患と考えられていた。その後、IL-12 のシグナルの異常により発症する IL-12 レセプター-b1 サブユニット (*IL12RB1*) や IL-12p40 サブユニット (*IL12B*) の異常により、低病原性マイコバクテリアに加えて、サルモネラなどの細胞内寄生菌、カンジダに対する易感染性を呈する疾患が加わった。これらの疾患は、前者が IFN γ のシグナル伝達の低下を特徴とし、後者が IL-12 と IL-23 のシグナル伝達の低下を特徴とする。さらに IL-12, IL-23, IFN α のシグナルの低下による TYK2 欠損症、IFN γ と IL-17 の産生障害による RORC 欠損症、IFN γ の産生障害と IFN α/β のシグナル過剰による大脳基底核の石灰化をきたす

ISG15 欠損症など多様な疾患群が発見された。IRF8 の変異によるものや、変異のうちのごく一部が MSMD を呈する CYBB や NEMO を合計すると、これまでに 11 個の原因遺伝子が同定されている。IFNGR の遺伝子異常症では、多発性の骨髄炎が特徴的で、根治的治療法は造血幹細胞移植に限られ、その予後も不良であることが多く、早期発見、早期治療開始が特に重要である。

B. 研究方法

これまでの MSMD に関する原著論文を詳細に検討し、本症に含まれる 11 個の遺伝子異常がどのような病態形成機構で疾患を発症するかを検討した。また、これまでに提唱されたいくつかの診断基準を比較検討して、臨床的に使いやすい診断基準、診断のためのフローチャートを作成した。

C. 研究結果

実際の診断基準を別紙に示す。

D. 考察

MSMD は原発性免疫不全症候群の中では比較的頻度の高い疾患である。マイコバクテリ

アや細胞内寄生菌を貪食したマクロファージ等の抗原提示細胞は、IL-12 を産生し、これが T 細胞、NK 細胞に作用して IFN γ が産生される。これがマクロファージ等の貪食細胞に作用してマイコバクテリアや細胞内寄生菌が殺菌・排除される。この過程が障害された状態が MSMD で、異なる多くの分子の異常により類似の病態を呈する。確定診断には、遺伝子検査が重要であるが、一方で臨床症状よりある程度の病型分類が可能である。

E. 結論

MSMD の診断基準を作成した。感染症の起炎菌より本症を疑い、非特異的な日和見感染症が原因のマイコバクテリアや細胞内寄生菌に対する易感染性を除外し、免疫能検査と遺伝子検査により確定診断する。

F. 研究発表

当研究に直接関連した発表はない。

G. 知的財産権の出願・登録状況

無し。