

**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 2 7 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 野々山 恵章

平成 2 8 (2 0 1 6) 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

・ 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（防衛医科大学学校小児科学講座）	

・ 分担研究報告

1. 複合免疫不全症について	
Omenn症候群の診断基準作成に関する研究	9
笹原 洋二（東北大学大学院医学系研究科発生・発達医学講座小児病態学分野）	
プリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ欠損症の診断ガイドライン	13
小野寺 雅史（国立成育医療研究センター成育遺伝研究部）	
CD8欠損症の診断基準の作成について	17
有賀 正（北海道大学大学院医学研究科小児科学分野）	
ZAP70欠損症の診断基準の作成	20
森尾 友宏（東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野）	
2. 免疫不全を伴う特徴的な症候群について	
DiGeorge症候群の診断基準の作成	22
小島 勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学）	
3. 原発性食細胞機能不全症および欠損症について	
白血球接着不全症の診断基準	25
布井 博幸（宮崎大学医学部生殖発達医学講座小児科科学分野）	
シュワッハマン・ダイヤモンド症候群の診断基準案作成	28
中畑 龍俊（京都大学 iPS細胞研究所臨床応用研究部門）	
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	31
谷内江 昭宏（金沢大学大学院医薬保健学総合研究科小児科）	
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	34
峯岸 克行（徳島大学疾患予防・治療研究センター病態予防・治療分野）	
「その他の白血球機能異常症」の診断基準作成について	39
平家 俊男（京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学）	

4.	自然免疫異常について	
	自然免疫不全症の診断基準の作成 -----	41
	高田 英俊（九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学）	
	その他の自然免疫不全症の診断基準・診断フローチャートの策定に関する研究 --	44
	加藤 善一郎（岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学）	
5.	先天性補体欠損症について	
	先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫」の診断基準の作成について -----	46
	堀内 孝彦（九州大学病院別府病院免疫・血液・代謝内科）	
6.	診断基準に関するその他の研究報告	
	原発性免疫不全症“ICF症候群”の原因遺伝子の同定 -----	48
	高田 英俊（九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学）	
	PTEN異常による免疫不全症について -----	52
	野々山 恵章（防衛医科大学校小児科学講座）	
	フローサイトメトリーを用いたAPDSの診断 -----	53
	小林 正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学）	
	九州における家族性血球貪食症候群(FHL)の現状 -----	58
	高田 英俊（九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学）	
	乾燥ろ紙血を用いた原発性免疫不全症の新生児マススクリーニング臨床研究 ----	62
	小野寺 雅史（国立成育医療研究センター成育遺伝研究部）	
	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 -----	65
	小原 収（かずさDNA研究所）	
	資 料 -----	69
	・研究成果の刊行に関する一覧表 -----	156
	・研究成果の刊行に関する別冊 -----	160

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300種類程度あるため、適切な診断や診療のためには、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が必要であり、これにより患者QOL向上や重症度にあった難病支援が可能になると考えられる。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27年度は、国際免疫学会による大分類から代表的な疾患を選び、平成26年度に作成した22疾患以外の36疾患を対象とした。方法としては、疾患を専門家により成り立つ作業グループに割り振り、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。作成方法は、論文検索、国際的な診断基準を参考にした。作成した案を班会議で発表し、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、作成された案を承認した。さらに、承認した案について、日本小児科学会小児慢性疾患委員会構成員である日本免疫不全症研究会で承認を得た。

さらに、新規に原因遺伝子が同定されたPTEN欠損症、ICF type 3, ICF type 4の診断法、APDSのFACSを用いた新規迅速診断法、FHLの現状調査と診断法の確立などの成果を得た。

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

高田 英俊 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 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医歯学総合研究科
発生発達病態学分野 教授

小島 勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 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

笹原 洋二 東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野 准教授

小原 収 公益財団法人かずさ DNA 研究所 副所長

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

研究協力者

堀内 孝彦 九州大学病院別府病院
免疫・血液・代謝内科／循環・呼吸・老年病内科 教授

金兼 弘和 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
発生発達病態学分野 准教授

今井 耕輔 東京医科歯科大学大学院
小児・周産期地域医療学講座寄付講座 准教授

高木 正稔 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

A. 研究目的

原発性免疫不全症は希少であり、且つ、300種類程度あるため、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(International Union of Immunological Societies, IUIS)により大きく9種に分けられた分類(IUIS 分類)を網羅するように各大分類から難病に指定されている疾患を中心にして代表的な疾患を選び、かつ平成26年に作成した22疾患を除き、36疾患を対象として、診断基準案、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。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、診断基準案、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4,091人が登録されている。これらのデータをもとに診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを作成した。

さらに、新規に同定された免疫不全症であるPTEN欠損症、APDS, ICF type 3, type4の診断法の確立をFACS、遺伝子解析を活用して行った。また、TREC測定を用いた新生児スクリーニングのパイロットスタディ、九州地区のFHLの診断とその解析も行った。

(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、各施設の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、2015年IUIS免疫不全症分類では、複合免疫不全症として50疾患、そのうち重症複合免疫不全症として16疾患が掲載されている。

平成26年度に、X-SCID、ADA欠損症の診断基準などを作成した。今年度は、オームン(Omenn)症候群、プリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ欠損症、CD8欠損症、ZAP70欠損症の診断基準、診断フローチャート、重症度分類を作成した。方法としては、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、さらに、過去の論文や我々の施設の経験を加え、日本の実情に合うようにした。

オームン(Omenn)症候群は、新生児・乳児期に網内系および皮膚の細胞浸潤と好酸球増多を呈する疾患であり重症複合免疫不全症(SCID)を来すいくつかの疾患責任遺伝子産物の活性が残存している

(hypomorphic)変異によって発症する疾患である。RAG1、RAG2、Artemis、IL2RG、IL7RA、ADA、DNA ligase、RMRP、AK2のhypomorphic変異による。ただし、DiGeorge症候群に関連して発症する症例や、原因の特定できない症例もある。本症候群は臨床所見の多様性があるため、しばしば早期確定診断が困難な場合がある。そこで、本症候群の疾患概要をまとめ、診断方法とその進め方が明確となるような診断基準とフローチャート、および重症度分類を作成した。

プリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ(PNP)はプリン代謝酵素で、PNPが欠損すると細胞内に deoxyGuanosine triphosphate (dGTP) が蓄積し、この dGTP が RNA から DNA への変換に重要な ribonucleotide reductase を著しく傷害するため、患者は T 細胞不全を主体とする免疫不全を呈する。また、2/3 の患者で進行性神経症を発症し、1/3 の患者で様々な自己免疫性疾患を呈する。検査上の特徴として T 細胞は減少するが、B 細胞数は比較的保たれ、高度の低尿酸血症を呈する。診断は、T 細胞不全による臨床症状と血中・尿中尿酸値の低下にて本疾患を疑い、タンデムマススペクトロメーターにてプリンヌクレオチド等の異常値を確認し、最終的に PNP 遺伝子解析にて確定診断に至る。PNP は T 細胞不全を主体とする免疫不全症、低尿酸血症等により比較的困難なく診断が可能な疾患である。しかし、プリンヌクレオチド等を測定する TMS は一般的ではないため、新生児スクリーニングの導入を含め、これらプリンヌクレオチドを測定する体制を整えることが必要と思われる。また、本疾患は、ADA 欠損症同様、先天代謝異常症の範疇に入り、進行性の神経症を併発することから、治療法である造血幹細胞移植を如何に早く行うかが肝要である。その意味でも、ろ紙血を用いた新生児マススクリーニングの導入はこれら問題点を解決する可能性があり、TREC により SCID のスクリーニングに加え、ADA 欠損症、PNP 欠損症を含めた先天代謝異常症に対する新生児スクリーニングの早期導入が必要と考えられた。

CD8 欠損症は CD8 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。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) T 細胞増多である。成人期に呼吸機能不全で死亡するものから軽症、無症状まで重症度は様々である。診断基準としては、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。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 *ZAP70*、*TAP1*、*TAP2*、*TAPBP*、*B2M* などの責任遺伝子も解析することが必要である。診断フローチャートも作成したが、重症度分類は症例が少なく、現時点での作成は困難であり、今後の症例の蓄積が必要である。

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として、45 疾患が IUIS 分類に掲載されている。平成 26 年度に 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、先天性角化異常症について、診断基準、診断フローチャート、重症度について作成し、一部診療ガイドライン案も作成した。

平成 27 年度は、DiGeorge 症候群を対象とした。

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。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、文献知見、欧州免疫不全症学会 (ESID) における診断基準を参考にして、以下の通り診断基準を作成した。

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。

また、完全型 DiGeorge 症候群と部分型 DiGeorge 症候群の診断基準も別個に作成した。例えば、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場合は、完全型 DiGeorge 症候群とした。

また、染色体 22q11.2 の欠損があっても DiGeorge 症候群の基準を満たさない症例があること、10p13-14、18q21.33、4q21.3-q25 領域の欠損または *CHD7* 遺伝子変異により DiGeorge 症候群を発症することがあることも注意すべきである。

なお、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。

3. 液性免疫不全を主とする疾患

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。34 疾患が IUIS 分類に掲載されている。

平成 26 年度に、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について診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成を行った。

平成 27 年度は、我々が新規に見出した PTEN 欠損症の診断基準作成、および最近報告された activated PI3K syndrome (APDS) の FACS による迅速診断法の確立を行った。

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)、家族性血球貪食症候群 (Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL)) 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。37 疾患が IUIS 分類に掲載されている。

平成 26 年度は CHS、XLP1、XLP2、ALPS の診断基準の作成を行った。

平成 27 年度は、FHL の九州における疾患調査を行い、それに基づき、遺伝子診断、蛋白発現、診断法の確立を行った。FHL は予後不良であり、早期診断し臓器障害が進行する前に造血幹細胞移植する必要がある。診断法の確立は大きな意義があると考えられる。

5. 原発性食細胞機能不全症および数的欠損症

原発性食細胞機能不全症および欠損症は、30 疾患が IUIS 分類に掲載されている。

平成 26 年度は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。

平成 27 年度は、機能異常として、食細胞の遊走に関わる接着因子欠損症 (Leukocyte adhesion molecule deficiency, LAD) 1 型、2 型、3 型、好中球産生不全をきたすシュワッハマン・ダイヤモンド症候群、細胞内酵素欠損による殺菌能低下を示すミエロペルオキシダーゼ欠損症、GATA2 欠損症、CRF 異常症、数的欠損症である先天性好中球減少症、周期性好中球減少症について、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。

6. 自然免疫不全症

2015 年の IUIS 分類では、自然免疫不全症には、33 疾患が掲載されている。

平成 26 年度には、免疫不全を伴う無汗性外胚葉形成異常症、IRAK4 欠損症、慢性皮膚粘膜カンジダ症の 3 疾患について診断基準、診断フローチャート、重症度について作成した。

平成 27 年度は、メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症、MyD88 欠損症、家族性単純ヘルペス脳炎、常染色体劣性遺伝 STAT1 欠損症、STAT2 欠損症、IRF7 欠損症、CD16 欠損症、MCM4 欠損症、疣贅状表皮発育異常症、WHIM 症候群、トリパノソーマ症、孤立性無脾症の 12 疾患診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの作成を行った。

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。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

補体は 30 余りの分子によって構成されており、1) 前期反応成分、2) 後期反応成分、3) 補体制御因子ならびに補体受容体に分類される。1) と 2) は直接補体活性化のカスケードに関わる分子群である。先天性の欠損によって細菌へ易感染性になるとともに 1) では自己免疫疾患を併発する場合がある。一方、3) の欠損症はそれぞれの分子の機能不全に起因した病態を呈し、遺伝性血管性浮腫、非典型的溶血性尿毒症症候群、加齢黄斑変性、発作性夜間血色素尿症など多岐にわたる疾患を招来する。

こうした疾患の診断のためにタンパクレベル、遺伝子レベルで解析する方法の確立が必要である。そして、診断法を確立し、全国レベルの患者レジストリーを進める予定である。

8. TREC 測定による新生児スクリーニング法および迅速診断法の確立

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。

すなわち、単一施設ではあるがパイロットスタディとして 303 例の新生児の TREC を測定したところ、2 例で異常値を示した。このことから、TREC 測定系は定量的に大量検体を測定することが可能であることが示された。

今後、TREC 測定による SCID の新生児マススクリーニングの国内への導入体制について検討を進める。これにより、新生児期での免疫不全症の迅速な診断が可能になる。

9. 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 714 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 27 年(2015 年)中に PIDJ に登録された症例について疫学的に検討した。登録症例は毎年増加しているが、平成 27 年は 714 症例が新規に登録されたことになる。しかしながら、2015 年末で、総計 4091 例が PIDJ データベースに登録されているが、人口 10 万人あたり、3.4 例であり、依然欧州諸国と比べ約半数にとどまっている。まだ診断されていない症例、見逃されている症例がいることを示している。

疾患分類別割合では、自己炎症性疾患が

40%と最多である。次に多いのが免疫調節異常症12%であり、急激に増えている。以下、免疫不全症を呈する特徴的な症候群11%、抗体産生不全9%、貪食細胞異常症9%と続き、複合免疫不全症3%、自然免疫不全症3%、補体欠損症3%であった。

ヨーロッパのデータベースであるESIDでは、19,366人が2014年までに登録され、抗体産生不全は56.66%と最も多く、ほとんどを占めている。次いで免疫不全を伴う特徴的な症候群は13.91%、食細胞異常は8.73%、T細胞障害は7.47%であった。

このように、ESIDとPIDJでの登録疾患の割合が異なっている事が明らかになった。この理由として、以下の点が考えられる。

1)登録数が予想される患者数より少ないことから、免疫不全症登録事業であるPIDJが医師に広く知られてなくて、疾患を診断治療しても未登録例がある可能性がある。

2)登録への積極性が医師により異なる事も考えられる。自己炎症疾患、食細胞異常は医師が登録に熱心であり、最も多く登録されていたため、ESIDと比較して多い割合であった事が考えられる。

3)免疫不全症という疾患が見逃されている可能性、場合によっては見逃されて死亡している症例がある可能性が考えられる。

こうしたことから、作成した原発性免疫不全症診断基準を公開して見逃し症例を減らすこと、診断した場合はPIDJに登録することを継続的に周知することが重要であると考えられる。

また、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38%(1578例)を占めている。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。

10. 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520症例の解析依頼を受け、解析した述べ遺伝子数は3,000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。

診断基準、重症度分類、診断フローチャート、診療ガイドラインの案の作成は、論文検索による情報収集および国際的な診断基準を参考にした。さらに本研究班で構築したデータベース、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を活用した。具体的には、新規に原因遺伝子が同定された PTEN 欠損症、ICF type 3, ICF type 4 の診断法、APDS の FACS を用いた新規迅速診断法、FHL の現状調査と診断法の確立などの成果を利用できた。

このように作成し、研究班で承認した案を、日本免疫不全症研究会等関連諸学会により認証を得た。

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予定である。

また診断基準策定と並行して、臨床所見、検査データ、免疫学的データをもとにして、遺伝子診断ができる体制も整えた。また小児慢性特定疾患や難病として指定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。

今後は、300ある原発性免疫不全症の診断基準、診断フローチャート、および重症度分類を作成する。また、診療ガイドラインは

一部の疾患でしか作成できなかったもので、最新の全国調査の結果や、国際的な動向も踏まえ、少なくとも代表的な疾患については作成する事を目標とする。

E. 結論

国際免疫学会により9種に分けられた大分類から代表的な疾患を選び、計36疾患について、診断基準を作成し、一部の疾患では重症度分類、診断フローチャート、診療ガイドラインも作成できた。新規診断法も確立できた。患者診断に大きく役立つ成果が得られた。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

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
Omenn症候群の診断基準作成に関する研究

研究分担者 笹原洋二
東北大学大学院医学系研究科発生・発達医学講座小児病態学分野 准教授

研究要旨

オーメン(Omenn)症候群は、新生児・乳児期に網内系および皮膚の細胞浸潤と好酸球増多を呈する疾患であり、RAG1あるいはRAG2遺伝子異常を含む重症複合免疫不全症(SCID)を来すいくつかの疾患責任遺伝子産物の活性が残存している(hypomorphic)変異によって発症する疾患である。RAG1、RAG2、Artemis、IL2RG、IL7RA、ADA、DNA ligase、RMRP、AK2のhypomorphic変異によるが、DiGeorge症候群に関連して発症する症例や、原因の特定できない症例もある。遺伝形式は責任遺伝子の種類により常染色体劣性遺伝形式かX連鎖遺伝形式をとる。

本症候群は臨床所見の多様性があるため、しばしば早期確定診断が困難な場合がある。今回我々は、本症候群の疾患概要をまとめ、診断方法とその進め方が明確となるような診断基準とフローチャート、および重症度分類を作成した。

A. 研究目的

複合免疫不全症の一つであるOmenn症候群は稀な疾患であり、確定診断のための指標が必要である。今回我々は、Omenn症候群の疾患概要、診断方法をフローチャートを含めてまとめ、適切な診断のための指標とすること、および重症度分類を行うことを研究目的とした。

B. 研究方法

これまでの研究報告から、各疾患の疾患概要、診断方法、重症度分類を含めてまとめた。診断基準の作成に当たっては、これまでの総説的文献と知見をまとめた上で、臨床症状と検査所見を満たし、診断フローチャートの提示を含めて行った。

(倫理面への配慮)

臨床研究に関する倫理指針(平成20年厚生労働省告示第415号)を遵守して行った。

C. 研究結果

Omenn症候群について、疾患概要、診断方法、重症度分類を作成した。診断方法として臨床症状、検査所見、補助条項、診断の進め方とフローチャート、診断基準について、別紙図表にまとめた。

疾患名(日本語) : オーメン(Omenn)症候群

疾患名(英語) : Omenn syndrome

OMIM 番号: 603554

	RAG1 deficiency	RAG2 deficiency
ICD9 分類	279.2	D81.1
ICD10 分類	279.2	D81.1

疾患概要

オーメン(Omenn)症候群は、新生児・乳児期に網内系および皮膚の細胞浸潤と好酸球増多を呈する疾患であり、RAG1あるいはRAG2遺伝子異常を含む重症複合免疫不全症(SCID)を来すいくつかの疾患責任遺伝子産物の活性が残存している(hypomorphic)変異によって発症する疾患である。RAG1、RAG2、Artemis、IL2RG、IL7RA、ADA、DNA ligase、RMRP、AK2のhypomorphic変異

によるが、DiGeorge 症候群に関連して発症する症例や、原因の特定できない症例もある。遺伝形式は責任遺伝子の種類により常染色体劣性遺伝形式あるいはX連鎖遺伝形式をとる。

【診断方法】

A. 臨床症状

1. 皮膚症状

生後間もなくからみられる湿疹様皮膚病変で、重症アトピー性皮膚炎に類似する。紅皮症を呈する。細胞浸潤に伴う症状である。

2. リンパ節腫脹

著明なリンパ節腫脹がみられる。細胞浸潤に伴う症状である。

3. 肝脾腫

細胞浸潤に伴う症状である。

4. 易感染性

通常生後数ヶ月以内に T 細胞機能不全の症状として、日和見感染を含む様々な重症感染症を発症する。慢性下痢、肺炎、体重増加不良などを呈する。

B. 検査所見

1. 末梢血 T 細胞は存在し(300/ μ l 以上)、T 細胞はオリゴクローナルな分化・増殖を呈する。
2. 末梢血 B 細胞数は低下する。血清 IgG、IgA、IgM 値は低下する。
3. 好酸球数は増加し、総 IgE 値は高値を示す。
4. RAG1、RAG2 を含む重症複合免疫不全症の責任遺伝子の hypomorphic 変異による。

C. 補助条項

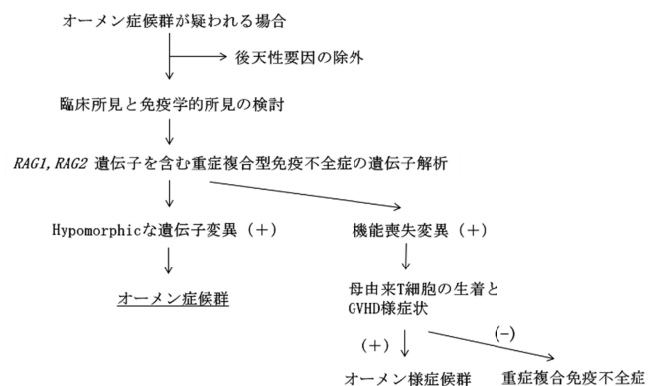
1. 本症候群では、T 細胞機能不全にともなう SCID 様の病態と、残存する T 細胞のオリゴクローナルな増殖・浸潤による病態を示す。T 細胞分化ないし機能不全は制御性 T 細胞も分化障害も含み、また胸腺髄質上皮細胞の発育障害をもたらす。その結果免疫寛容破綻にともなう自己反応性 T 細胞の増殖・活性化を来し、種々の自己免疫疾患を生じる。また Th2 細胞分化への偏位により残存 B 細胞による IgE 産生増加と好酸球増加がみられる。
2. T 細胞クローナリティーの検討には、T 細胞受容体 (TCR) レパトア解析が有用である。
3. TREC/KREC 測定も病態の検討に有用である。
4. 重症複合型免疫不全症に母親由来 T 細胞が児に生着し、移植片対宿主病 (GVHD) 様症状をとる場合は、いわゆるオーメン様

(Omenn-like) 症候群の臨床像を呈する。

D. 診断の進め方(フローチャート参照)

臨床所見に多様性を認めるため、本症候群が疑われる場合、後天性要因の除外を行った後、臨床所見と免疫学的所見の検討を行い、最終的に複数の重症複合免疫不全症の hypomorphic な遺伝子変異を同定する。残存活性がない場合は、母由来 T 細胞の有無を検討し、オーメン様症候群あるいは重症複合免疫不全症の鑑別診断を行う。

<オーメン症候群の診断フローチャート>



E. 診断基準

臨床症状と免疫学的検査所見を満たし、RAG1 あるいは RAG2 遺伝子を含む上記重症複合免疫不全症の責任遺伝子の hypomorphic な遺伝子変異を認める場合にオーメン症候群と診断する。

重症度分類：重症

通常生後数ヶ月以内に日和見感染を含む様々な重症感染症を発症するため、継続的な感染症及び合併症に対する予防と治療を行う。副腎皮質ステロイド剤やシクロスポリン A などの免疫抑制剤の効果は一時的である。唯一の根治療法としては同種造血幹細胞移植があり、早期に施行されなかった場合の予後は不良である。

文献

- 1) Omenn GS. Familial reticuloendotheliosis with eosinophilia. N Engl J Med 1965; 273: 427-432.
- 2) Villa A, Santagata S, Bozzi F, et al. Partial V(D)J recombination activity leads to Omenn syndrome. Cell 1998; 93: 885-896.
- 3) Villa A, Sobacchi C, Notarangelo LD, et al. V(D)J recombination defects in lymphocytes due to RAG mutations: severe immunodeficiency with a spectrum of clinical presentations. Blood 2001; 97: 81-88.
- 4) Wada T, Toma T, Okamoto H, et al. Oligoclonal expansion of T lymphocytes with multiple second-site mutations leads

to Omenn syndrome in a patient with RAG1-deficient severe combined immunodeficiency. *Blood* 2005; 106: 2099-2101.

- 5) Wong SY, Roth DB. Murine models of Omenn syndrome. *J Clin Invest* 2007; 117: 1213-1216.
- 6) de Villartay JP, Lim A, Al-Mousa H, et al. A novel immunodeficiency associated with hypomorphic RAG1 mutations and CMV infection. *J Clin Invest* 2005; 115: 3291-3299.
- 7) Avila EM, Uzel G, Hsu A, et al. Highly variable clinical phenotypes of hypomorphic RAG1 mutations. *Pediatrics* 2010; 126: e1248-1252.
- 8) Cassani B, Poliani PL, Marrella V, et al. Homeostatic expansion of autoreactive immunoglobulin-secreting cells in the Rag2 mouse model of Omenn syndrome. *J Exp Med* 2010; 207:1525-1540.
- 9) Wada T, Takei K, Kudo M, et al. Characterization of immune function and analysis of RAG gene mutations in Omenn syndrome and related disorders. *Clin Exp Immunol* 2000; 119: 148-155.
- 10) Schandene L, Ferster A, Mascart-Lemone F, et al. T helper type 2-like cells and therapeutic effects of interferon-gamma in combined immunodeficiency with hypereosinophilia (Omenn's syndrome). *Eur J Immunol* 1993; 23: 56-60.
- 11) Markert ML, Alexieff MJ, Li J, et al. Complete DiGeorge syndrome: Development of rash, lymphadenopathy, and oligoclonal T cells in 5 cases. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 734-741.
- 12) Giliani S, Bonfim C, de Saint Basile G, et al. Omenn syndrome in an infant with IL7RA gene mutation. *J Pediatr* 2006; 148: 272-274.
- 13) Shibata F, Toma T, Wada T, et al. Skin infiltration of CD56bright CD16- natural killer cells in a case of X-SCID with Omenn syndrome-like manifestations. *Eur J Haematol* 2007; 79: 81-85.
- 14) Roifman CM, Zhang J, Atkinson A, et al. Adenosine deaminase deficiency can present with features of Omenn syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121: 1056-1058.

D. 考察

Omenn 症候群について、その疾患概要、診断方法および重症度分類をまとめ、適切な診断のための指標となったと考える。

E. 結論

Omenn 症候群について、疾患概要、診断方法 (臨床症状、検査所見、補助条項、診断の進め方とフローチャート、診断基準)、重症度分類、文献についてまとめた。

これにより、適切な診断のための指標とすることができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakayama T, Sato Y, Uematsu M, Takagi M, Hasegawa S, Kumada S, Kikuchi A, Hino-Hukuyo N, Sasahara Y, Haginoya K, Kure S. Myoclonic axial jerks for diagnosing atypical evolution of ataxia telangiectasia. *Brain Dev.*, 37(3):362-365, 2015.
- 2) Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kikuchi A, Goi K, Nakane T, Ikeno M, Noguchi Y, Uike N, Miyajima Y, Matsubara K, Koh K, Sugita K, Imaizumi M, Kure S. Analyses of genetic and clinical parameters for screening patients with inherited thrombocytopenia with small or normal-sized platelets. *Pediatr. Blood Cancer*, 62(12):2082-2088, 2015.
- 3) Sasahara Y. The WASP-WIP complex in the molecular pathogenesis of Wiskott-Aldrich syndrome. *Pediatr. Int.*, 2015 in press.
- 4) 笹原洋二. 総説:ITP と鑑別が必要な小型・正常大の血小板を有する遺伝性血小板減少症. *日本小児血液・がん学会雑誌* 52(3):311 -316, 2015.

2. 学会発表

- 1) Yoji Sasahara. Invited lecture: Hematopoietic stem cell transplantation for primary immunodeficiency and inborn errors of metabolism: a Japanese multicenter study. (口演). The Pediatric Hematology and Oncology Precision Therapy Forum, 2015 National CME Program in China, Shanghai, China. November 6th, 2015.
- 2) 笹原洋二. 特別講演:ITP と鑑別が必要な先天性血小板減少症・免疫不全症 (口演). 第 1 回山形血液研究会 (山形) 2015 年 9 月 25 日.
- 3) 笹原洋二. 教育講演:原発性免疫不全症の分子病態から考察する細胞外寄生菌に対する生体防御機構 (口演). 第 47 回日本小児感染症学会 (福島) 2015 年 10 月 31 日.
- 4) 笹原洋二. 招待講演:ITP と鑑別が必要な小型・正常大の血小板を有する先天性血小板減少症 (口演). 第 23 回

日本小児 ITP 研究会（甲府） 2015 年 11 月 27 日.

- 5) 笹原洋二、内山芽里、今泉益栄、呉繁夫 . Plenary session (English):Analyses of genetic and clinical parameters for screening patients with inherited thrombocytopenia with small or normal-sized platelets. (口演). 第 57 回日本小児血液・がん学会学術集会（甲府） 2015 年 11 月 28 日.
- 6) 笹原洋二. ランチョンセミナー:小児がんと免疫不全症を繋ぐ症例とその分子病態 (口演). 第 57 回日本小児血液・がん学会学術集会（甲府） 2015 年 11 月 29 日.

**G. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）**

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。

複合免疫不全症

プリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ欠損症の診断ガイドライン

研究分担者 小野寺雅史 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部部長

研究要旨

プリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ (PNP) はプリン代謝酵素で、PNP が欠損すると細胞内に deoxyGuanosine triphosphate (dGTP) が蓄積し、この dGTP が RNA から DNA への変換に重要な ribonucleotide reductase を著しく傷害するため、患者は T 細胞不全を主体とする免疫不全を呈する。また、2/3 の患者で進行性神経症を発症し、1/3 の患者で様々な自己免疫性疾患を呈する。検査上の特徴として T 細胞は減少するが、B 細胞数は比較的保たれ、高度の低尿酸血症を呈する。診断は、T 細胞不全による臨床症状と血中・尿中尿酸値の低下にて本疾患を疑い、タンデムマススペクトロメーターにてプリンヌクレオチド等の異常値を確認し、最終的に PNP 遺伝子解析にて確定診断に至る。なお、予後は不良であり、造血幹細胞移植が唯一の根治療法である。

A . 研究目的

核酸代謝酵素のプリンヌクレオチド・ホスホリラーゼ (PNP) は細胞障害等の際に生じる核酸を再利用するサルベージ経路において必須の酵素で、この経路において PNP は deoxyadenosine、adenosine を deoxyinosine、inosine に、deoxyguanosine と guanosine を guanine に変換する。PNP が欠損すると細胞内に deoxyguanosine、guanosine が蓄積し、これらがリン酸化を受けることで deoxyguanosine triphosphate (dGTP) に変換され、RNA から DNA への変換を促す ribonucleotide reductase を強く抑制する。その結果、患者の胸腺細胞や未熟 T 細胞は障害を受け、T 細胞を主体とする免疫不全症を呈する。一方、B 細胞は T 細胞ほど障害を受けず、B 細胞数は比較的保たれる。

今回、PNP 欠損症に対する診断のガイドライン作成のため文献的調査を行い、また、PNP 欠損症診断のためのスクリーニング法開発についても検討した。

B . 研究方法

1. PNP 欠損症に関する疫学調査 : PubMed 等にて PNP 欠損症を検索した。

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)

2. PNP 欠損症のスクリーニング法

(1) 上記ろ紙血を 4 で測定時まで保存する。

(2) ろ紙血からのサンプル調整

1) 1 パンチの乾燥血 (Dried Blood Spot: DBS)

2) 溶質溶媒 5mM AcONH₄ を添加

3) Vortex/ Sonic 30 分 on ice

4) 37 で 30 分間反応

5) アセトニトリル添加

6) 遠心にて上清を回収

7) 乾燥

8) 5mM AcONH₄/ アセトニトリルで 10 倍希釈

(3) LC/MS/MS 解析

1) HPLC; Prominence UFLC system Column; Merck ZIC-HILIC)

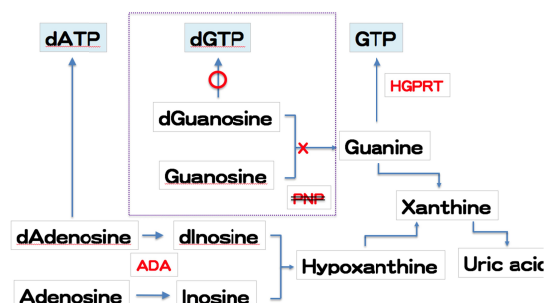
2) MS; LCMS-8030 Triple quadrupole mass spectrometer

(倫理面への配慮)

施設内の倫理審査委員会の承認を得、データは連結可能匿名化し、個人情報保護法を遵守する。

C. 研究結果

1. PNP 欠損症の病態



PNP が欠損すると細胞内に deoxyguanosine、guanosine が蓄積し、これらがリン酸化を受けることで deoxyguanosine triphosphate (dGTP) に変換される。この dGTP は RNA から DNA への変換を促す ribonucleotide reductase を強く抑制することから、T 細胞を主体とする免疫不全症を呈する。

2. PNP 欠損症の概要

別表 1 参照

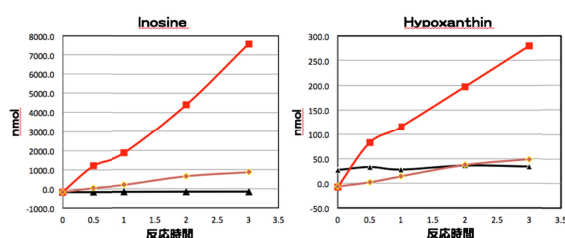
3. 診断ガイドラン

- (1) 易感染性等にて T 細胞不全を疑い、リンパ球数、FCM、リンパ球機能解析を行う。
- (2) 上記に加え、神経症状、尿酸値の低下があれば、TMS にてプリンヌクレオチド等の異常値を確認する。
- (3) 最終的には PNP 遺伝子解析にて確定診断に至る

4. スクリーニング法

ろ紙血より得られた検体に基質として adenosine と inosine を加え、その後、産生される inosine、hypoxanthine の量を TMS で調べた。

(赤：健常人、黒と茶は ADA 欠損症患者)。



健常人は反応時間と共に inosine 及び Hypoxanthine 量が増え、ADA 欠損症患者ではいずれのヌクレオシドの増加を認めない。

PNP 患者の場合、ADA 活性は保たれているので、Inosine の増加は認めるが、Hypoxanthine の低値のままである、

D. 考察

PNP 欠損症は極めて稀な疾患で、国内ではこれまでに 1 例が報告されているのみである。ただ、症状は T 細胞不全を主体とする重症免疫不全症 (SCID) であり、また、尿酸値の低値は診断価値が高いため、診断に至る経緯はさほど難しくはない。ただ、TMS での測定は一般的ではないため、その後、確定診断に時間が要する可能性はある。

また、本疾患は、ADA 欠損症同様、先天代謝異常症の範疇に入り、進行性の神経症を併発することから、治療法である造血幹細胞移植を如何に早く行うかが肝要である。その意味でも、ろ紙血を用いた新生児マススクリーニングの導入はこれら問題点を解決する可能性があり、TREC のより SCID のスクリーニングに加え、ADA 欠損症、PNP 欠損症を含めた先天代謝異常症に対する新生児スクリーニングの早期導入が必要と考える

E. 結論

- ・ PNP 欠損症の診断ガイドランを提示した。
- ・ PNP は極めて稀な疾患であるが、T 細胞不全を主体とする免疫不全症、低尿酸血症等により比較的困難なく診断が可能な疾患と思われる。
- ・ ただ、プリンヌクレオチド等を測定する TMS は一般的ではないため、新生児スクリーニングの導入を含め、これらプリンヌクレオチドを測定する体制を整えることが必要と思われる。

F. 研究発表

1) 論文発表

1. Nakazawa Y, Kawai T, Uchiyama T et al: Effects of enzyme replacement therapy on immune function in ADA deficiency patient.

- Clin Immunol* 161: 391-393, 2015.
2. Kawai T, Arai K, Harayama S, et al: Severe and Rapid Progression in Very Early-Onset Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis. *J Clin Immunol* 35: 583-588, 2015.
 3. Takeuchi Y, Takeuchi E, Ishida T et al: Curative haploidentical BMT in a murine model of X-linked chronic granulomatous disease. *Int J Hematol* 102: 111-120, 2015.
 4. Otsu M, Yamada M, Nakajima S et al: Treatment Outcomes in Two Japanese Adenosine Deaminase-Deficiency Patients Treated by Stem Cell Gene Therapy with No Cytoablative Conditioning. *J Clin Immunol* 35: 384-398, 2015.

**G. 知的財産権の出願・登録状況
（予定を含む。）**

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。

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 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) 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 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) 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 変異を両アリルに認めた時に 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

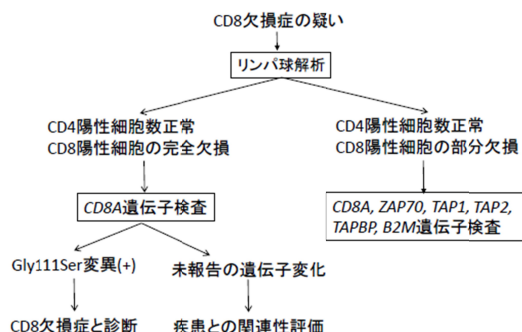
CD8 欠損症：DN T 細胞増多、抗 CD3 抗体刺激に正常に反応する。

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⁺ T 細胞は減少し、NK 細胞と T 細胞が増加する。

2mg 欠損症：報告例では CD8⁺ T 細胞欠損するが、CD8⁺ 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、両アリルの *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 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:

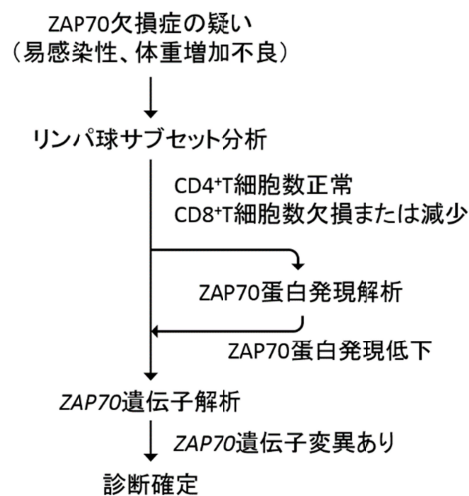
a master regulator of adaptive immunity.
Semin Immunopathol 2010; 32: 107-16.

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.

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。

F. 研究発表

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) / μL ($n = 28$) であった。リンパ球数の中央値 (範囲) は 3210 (588 ~ 5700) / μL ($n = 28$) で、リンパ球数 1500 / μL 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) / μL ($n=8$) で、CD3 陽性 T 細胞数 1500 / μL 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。

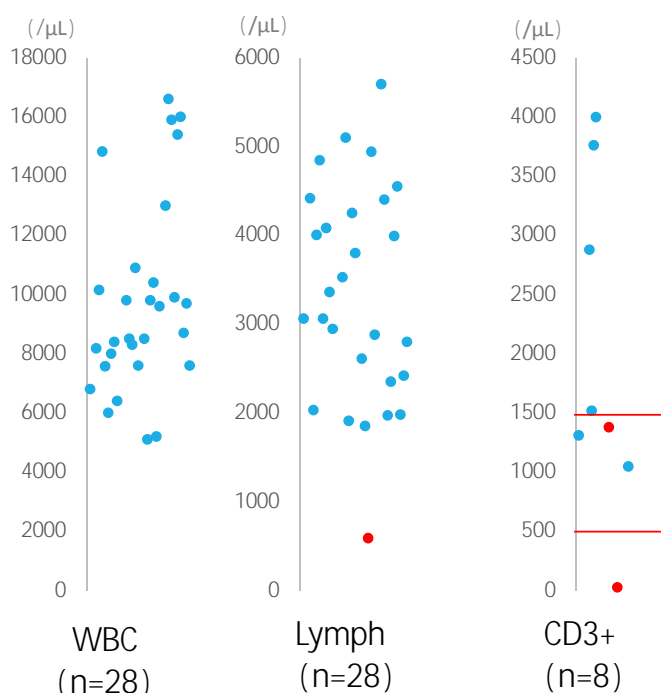
E. 結論

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, Shiraishi 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

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

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 $\beta 2$ 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、 $\beta 2$ インテグリン蛋白の細胞内ドメインに結合し、活性化する (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。


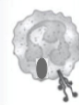

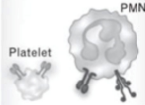
B. 研究方法

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
				
$\beta 2$ 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	組織侵入時の強い組織との結合	血管上皮のローリング欠損	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>

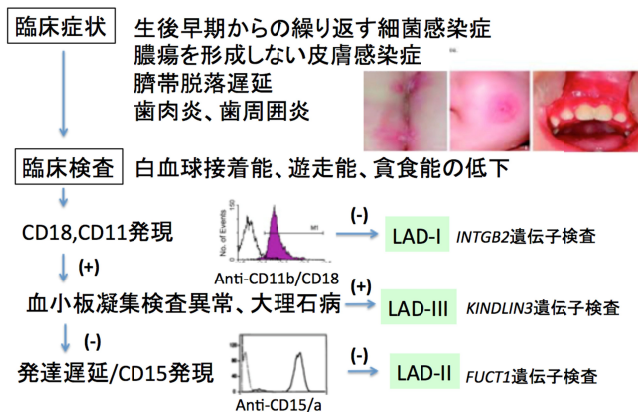
3. 補助事項

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、下記のフォ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
シュワッハマン・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

シュワッハマン・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、好中球減少、血球減少、膵外分泌不全、SBDS 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

シュワッハマン・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。

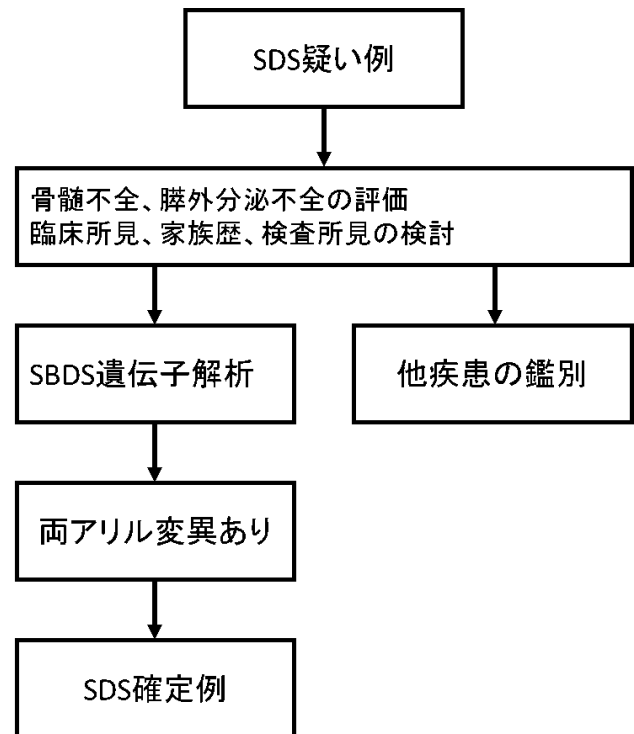
C-1.診断基準案

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。骨髓不全を認め、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. 膵外分泌不全と骨髓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) 骨髓検査で白血病あるいは骨髓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 遺伝子変異を両アリルに認める。
 - 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 症候群や囊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。P0 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 P0 活性が正常であることが特徴である。末梢血スメアを用いた 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】

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】

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。
末梢血スミアを用いた MPO 染色は陰性となる。

【補助条項】

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。

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。

DHR123 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。

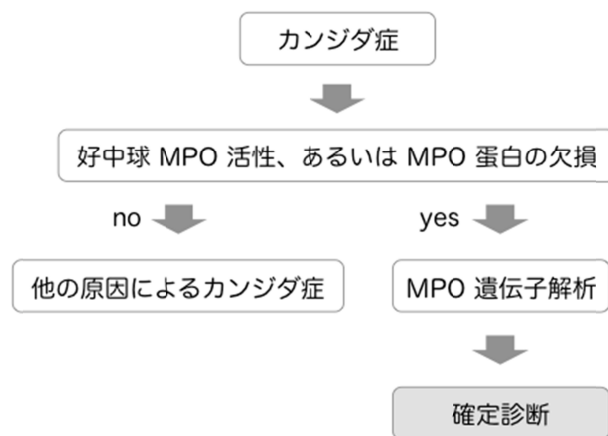
【診断の進め方】

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 γ_c 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徳島大学疾患予防研究センター病態予防分野

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 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 のシグナルの低下による TYK2 欠損症、IFN と IL-17 の産生障害による RORC 欠損症、IFN の産生障害と IFN / 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 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。

別紙 診断基準

疾患名(日本語) : メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症

疾患名(英語) : Mendelian susceptibility to Mycobacterial infection; MSMD

OMIM 番号:	IL12RB1	AR	614891
	IL12B	AR	614890
	IFNGR1	AR	107470
	IFNGR1	AD	615978
	IFNGR2	AR	614889
	STAT1	AD	614892
	CYBB	XL	300645
	NEMO	XL	300248
	IRF8	AD	614893
	TYK2	AR	611521
	ISG15	AR	616126
	RORC	AR	602943

MSMD

ICD9 分類 288.2

ICD10 分類 D72

疾患概要

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症(Mendelian susceptibility to Mycobacterial disease; MSMD)は、マイコバクテリア、サルモネラ、リステリア、レジオネラなどの細胞内寄生菌に対する易感染性を主徴とする原発性免疫不全症である。本症には常染色体劣性遺伝の9個、伴性劣性遺伝の2個の原因遺伝子が存在する。サイトカイン IFN の産生が障害される疾患(IL12B, IL12RB1, TYK2, IRF8, ISG15, NEMO, RORC の遺伝子変異によるもの)と IFN のシグナル伝達が障害される疾患(IFNGR1, IFNGR2, STAT1, CYBB の遺伝子変異によるもの)に大別され、遺伝子変異の検索が確定診断に重要である。

【診断方法】

A. 臨床症状

1. 易感染性

マイコバクテリア、サルモネラ、リステリア、レジオネラ、カンジダ、ヒストプラズマ、ノカルジアなどの各種の細胞内寄生細菌・真菌に対する易感染性を呈する。

B. 検査所見

1. BCG や非定型抗酸菌感染症で発症する症例が多いが、サルモネラなどそれ以外の細胞内寄生菌感染症で発症する症例もある。多くは、細胞内寄生菌以外の菌に対しては易感染性を認めないが、STAT1 や TYK2 の遺伝子異常によるものではウイルスなどに対する易感染性を、IL-12RB1 や RORC の遺伝子異常によるものではカンジダに対する易感染性を合併する。

2. 一般的な血液学的・免疫学的検査では異常を認めない。

3. FACS による IFNGR1 の発現・IFN に対する STAT1 のリン酸化、血中 IFN 濃度や試験管内での IFN 産生などの機能検査により、確定診断の重要な手掛かりを得られることがある。

4. *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*, *CYBB*, *TYK2*, *IRF8*, *ISG15*, *NEMO*, *RORC* の遺伝子変異を検索することにより確定診断する。

C. 補助条項

1. 慢性の発熱、肝脾腫、リンパ節腫脹、貧血等を主症状とし、細胞内寄生菌感染症の診断が

2. ランゲルハンス細胞組織球症との鑑別が必要なことがある。
3. IFN に対する自己抗体が原因で、本症に類似した臨床像を呈することがある。

BCG 感染症や非定型抗酸菌症を中心とする細胞内寄生菌に対する易感染性を呈し、血液学的検査と免疫学的スクリーニング（T 細胞増殖反応、リンパ球サブセット、免疫グロブリン値、補体価、好中球機能等）で異常を認めない症例に *IL12B*, *IL12RB1*, *TYK2*, *IRF8*, *ISG15*, *NEMO*, *RORC*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1*, *CYBB* の遺伝子検査を行う。*IFNGR1* の発現・IFN に対する *STAT1* のリン酸化・血中 IFN 濃度・試験管内での IFN 産生能などの機能検査により、確定診断の重要な手掛かりを得られることがある。

MSMDが疑われる症例

臨床所見と検査所見を検討

IFN γ 産生能とIFN γ 応答能を検討

IL12RB1, IL12B, IFNGR1, IFNGR2, STAT1,
IRF8, ISG15, RORC, CYBB, NEMO, TYK2の
遺伝子塩基配列の検討

特徴的な臨床症状により疑い、血液学的・免疫学的検査により除外診断し、遺伝子検査により確定診断する。

IFNGR1 nt2 5' 3' COOH

106_107nsT 106nsT C77Y V53C C77F B7F Y113X V61Q V96C C40Y S116X 561del 774del 794del E278X 459

22delC 105nsT 107nsA 114_135del 131delC 156delC 168delC 201-2A>G 202-1G>C 218delAA 382-387dup Y293X 791nsG 949delTG 337

IFNGR2 nt2 5' 3' COOH

186delC R114C G141R T170X G227R 958nsT 278delAG S124F T168A 663delT E320Q G461Q

STAT1 nt2 5' 3' COOH

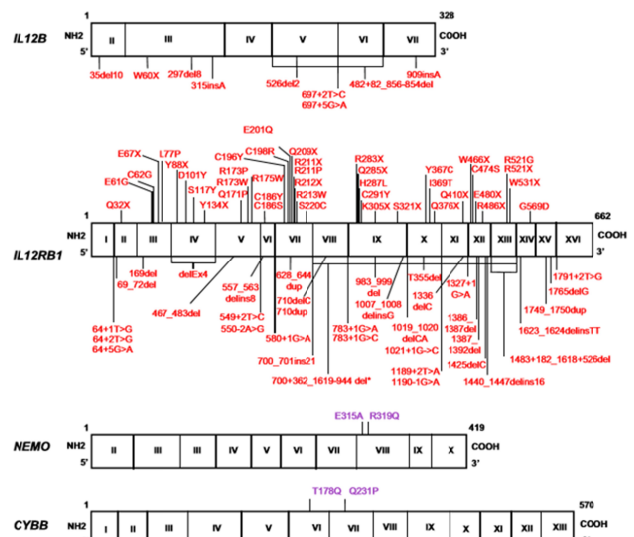
1 TGA 424

IRF8 nt2 5' 3' COOH

1 G55X E177X 165

ISG15 5' 3' COOH

336_337nsG



重症度分類：重症

IFNGR1 の完全欠損症は重症で、感染症のコントロールができた後も有効な抗生剤の継続投与が必要である。造血幹細胞移植が唯一の根治療法である。

文献

- 1) Newport MJ, Huxley CM, Huston S, et al. A mutation in the interferon-gamma-receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med* 1996; 335:1941.
- 2) Altare F, Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, et al. A causative relationship between mutant IFNGR1 alleles and impaired cellular response to IFN-gamma in a compound heterozygous child. *Am J Hum Genet* 1998;62:723.
- 3) Jouanguy E, Dupuis S, Pallier A, et al. In a novel form of IFN-gamma receptor 1 deficiency, cell surface receptors fail to bind IFN-gamma. *J Clin Invest* 2000; 105:1429.
- 4) Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, Lammas D, et al. A human IFNGR1 small deletion hotspot associated with dominant susceptibility to mycobacterial infection. *Nat Genet* 1999; 21:370
- 5) de Jong R, Altare F, Haagen IA, et al. Severe mycobacterial and Salmonella infections in interleukin-12 receptor-deficient patients. *Science* 1998; 280:1435.
- 6) Altare F, Durandy A, Lammas D, et al. Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. *Science* 1998; 280:1432.
- 7) Fieschi C, Dupuis S, Catherinot E, et al. Low penetrance, broad resistance, and favorable outcome of interleukin 12 receptor beta1 deficiency: medical and immunological implications. *J Exp Med* 2003; 197:527.
- 8) Altare F, Lammas D, Revy P, et al. Inherited interleukin 12 deficiency in a child with bacille Calmette-Guérin and Salmonella enteritidis disseminated infection. *J Clin Invest* 1998; 102:2035.
- 9) Hambleton S, Salem S, Bustamante J, et al. IRF8 mutations and human dendritic-cell immunodeficiency. *N Engl J Med* 2011; 365:127.
- 10) Bustamante J, Arias AA, Vogt G, et al. Germline CYBB mutations that selectively affect macrophages in kindreds with X-linked predisposition to tuberculous mycobacterial disease. *Nat Immunol* 2011; 12:213.
- 11) Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Abel L, Casanova JL. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease: Genetic, immunological, and clinical features of inborn errors of IFN-g immunity. *Semin Immunol* 2014; 26:454
- 12) Kreins AY, Ciancanelli MJ, Okada S et al. Human TYK2 deficiency: Mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. *J Exp Med* 2015; 212:1641
- 13) Okada S, Markle JG, Deenich EK et al., Immunodeficiencies. Impairment of immunity to Candida and Mycobacterium in humans with bi-allelic RORC mutations. *Science* 2015; 349:606

原発性食細胞機能不全症および欠損症
「その他の白血球機能異常症」の診断基準作成について

八角 高 裕 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)
井 澤 和 司 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)
河 合 朋 樹 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)
西小森 隆 太 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)
平 家 俊 男 (京都大学大学院医学研究科発生発達医学講座発達小児科学)

研究要旨

原発性食細胞機能不全症及び欠損症には、好中球減少症・白血球接着不全症・メンデル型マイコバクテリア易感染症などが含まれるが、これらに分類されず、特徴的な臨床症状を呈する疾患として、GATA2 欠損症および CRF2RA 異常症が挙げられる。本研究では、この 2 疾患について、疾患概要・診断方法・重症度分類・文献についてまとめ、診断基準案を作成した。

A. 研究目的

原発性食細胞機能不全症及び欠損症に含まれるものの、好中球減少症・白血球接着不全症・メンデル型マイコバクテリア易感染症に分類されず、特徴的な臨床症状を呈する GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の 2 疾患について診断基準案を作成することを目的とする。

B. 研究方法

各々の疾患について、国内外で集積された知見をもとに診断基準案を作成した。

(倫理面への配慮)

本研究は、患者臨床情報や検体を取り扱うものではないため、特に倫理的な配慮を必要とするものではない。

C. 研究結果

GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の 2 疾患について、疾患概要・臨床症状・診断方法・重症度分類・参考文献について別紙の通りまとめた。

D. 考察

これまで、GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の 2 疾患に関する診断ガイドラインは存在せず、今回作成した案により本邦での診断例が増え、疾患に関する更なる知見が集積されるも

のと期待される。又、診断の確定には現時点で保険適応外の検査が必要であるなど問題点も多く、今後の改定が必須であると思われる。

E. 結論

「その他の白血球機能異常症」に分類される疾患として、GATA2 欠損症と CRF2RA 異常症の診断基準案を作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 八角高裕、柴田洋史、下寺佐栄子、平家俊男。HLH 病態の多様性と治療戦略の展望。臨床血液 56:2248-57.2015.

2) 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. Exon skipping causes atypical phenotypes associated with a loss-of-function mutation in FLNA by restoring its protein function. Eur J

Hum Genet. 2015 Jun 10.
doi:10.1038/ejhg.2015.119.[Epub
ahead of print]

- 3) Hiejima E, Kawai T, Nakase H, Tsuruyama T, Morimoto T, Yasumi T, Taga T, Kanegane H, Hori M, Ohmori K, Higuchi T, Matsuura M, Yoshino T, Ikeuchi H, Kawada K, Sakai Y, Kitazume MT, Hisamatsu T, Chiba T, Nishikomori R, Heike T. Reduced Numbers and Proapoptotic Features of Mucosal-associated Invariant T Cells as a Characteristic Finding in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 21:1529-40.2015.
- 4) Yasumi T, Hori M, Hiejima E, Shibata H, Izawa K, Oda H, Yoshioka K, Nakagawa K, Kawai T, Nishikomori R, Ohara O, Heike T. Laboratory parameters identify familial haemophagocytic lymphohistiocytosis from other forms of paediatric haemophagocytosis. *Br J Haematol*. 170:532-8.2015.

2. 学会発表

- 1) CD57+ CTL degranulation and Munc13-4 protein expression assays are sensitive and reliable screening methods for FHL3. Kikuya A, Hori M, Yasumi T, Hiejima E, Shibata H, Izawa K, Oda H, Nishikomori R, Ohara O, Heike T. ASPR2015.
- 2) *Stenotrophomonas maltophilia*敗血症、間質性肺炎、及び好酸球増多を合併し、原発性免疫不全症の疑われる男児例 芝剛、八角高裕、仁平寛士、本田吉孝、柴田洋史、小田紘嗣、中川権史、井澤和司、河合朋樹、西小森隆太、深澤陽平、吉田忍、小原收、平家俊男 第9回日本免疫不全症研究会各術集会.
- 3) UNC13D遺伝子のexon duplicationによる家族性血球貪食性リンパ組織球症3型の1例 日衛嶋栄太郎、柴田洋史、井澤

和司、河合朋樹、八角高裕、西小森隆太、松岡正樹、小嶋靖子、小原明、小田紘嗣、小原收、平家俊男 第9回日本免疫不全症研究会各術集会.

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

自然免疫異常

自然免疫不全症の診断基準の作成

石村匡崇¹、高田英俊^{1,2}

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

研究要旨

自然免疫不全症のうち、MyD88 (Myeloid differentiation primary response gene 88) 欠損症の診断基準を作成した。MyD88 欠損症の臨床像は、Interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4) 欠損症と同様であり、また臨床像や通常の臨床検査では区別できないことから、IRAK4 欠損症に準じて作成した。Toll-like receptorからのシグナル伝達異常のある疾患の場合、フローサイトメーターを用いた LPS 刺激後の単球内 TNF- α 産生能を迅速診断法として取り入れた。MyD88 欠損症では、疾患特異的な臨床症状や検査所見がなく、診断には遺伝子診断が重要な位置を占める。

A. 研究目的

2015 年の International Union of Immunological Societies (IUIS) の分類では、自然免疫不全症には、1. Mendelian susceptibility to mycobacterial disease、2. 疣贅状表皮発育異常症、3. Wart hypogammaglobulinemia immunodeficiency myelokathexis (WHIM) 症候群、4. 重症ウイルス感染症、5. ヘルペス脳炎、6. CARD9 欠損症、7. 慢性皮膚粘膜カンジダ症、8. TLR シグナル伝達欠損 (IRAK4 欠損症、MyD88 欠損症)、9. Isolated asplenia、10. Trypanosomiasis の 10 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。このなかで MyD88 欠損症の病態を基盤とした診断基準を作成した。

B. 研究方法

MyD88 欠損症の臨床像と臨床検査結果、分子生物学的病態や遺伝的背景を考慮して診断基準、診断フローチャートを作成した。

C. 研究結果

実際の診断フローチャートを別紙に示す。

MyD88 欠損症は常染色体劣性遺伝形式をとる。獲得免疫が未熟な時期である乳幼児期に、

侵襲性細菌感染症に罹患しやすく、死亡率も高い。MyD88 欠損症は、IRAK4 欠損症同様に、Toll-like receptor (TLR) や IL-1R などからの細胞内シグナル伝達障害がおこり、肺炎球菌などに対する自然免疫機能が欠損する。

乳幼児期から化膿性髄膜炎、敗血症、関節炎/骨髄炎、深部組織膿瘍などの重症ないわゆる侵襲性細菌感染症がおこりやすい。化膿性髄膜炎などの重症感染症を繰り返す場合も少なくない。さらに早期から適切な治療をしているにもかかわらず、急速に進行し、救命できない例もみられる。起炎菌は肺炎球菌、ブドウ球菌、緑膿菌、溶血性連鎖球菌の 4 菌種がほとんどを占め、特に肺炎球菌感染症は 40% を占める。他方、易感染症はしだいに軽くなり、8 歳以降の感染症での死亡や 14 歳以降での重症感染症はないと報告されている。

2010 年の Picard らによる国際共同研究結果の報告以降、22 名以上の患者が登録されているが、国内からの報告はまだない。

MyD88 欠損症と IRAK4 欠損症は、基本的には同じ病態であり、病態が類似し、臨床上区別できないとされている。

上記起炎菌による侵襲性細菌感染症を呈し、家族歴がある場合、急速に進行した場合、繰り返した場合には、低ガンマグロブリン血症や無脾症あるいは好中球異常によるものなどを鑑別する必要がある。末梢血を用いた

迅速スクリーニング法は IRAK4 欠損症と同様に有用であると考えられる。

IRAK4 欠損症では臍帯脱落遅延がおこるが、MyD88 欠損症では明確には記載されたものがない。しかし、この2つの疾患は基本的に同じ病態であると考えられるため MyD88 欠損症でも臍帯脱落遅延はおこるものと考えられる。

確定診断は、遺伝子検査で確認された場合とした。即ち診断基準を以下に示す。

診断基準：MyD88 欠損症は、TLR や IL-1R などからの細胞内シグナル伝達が障害されることに起因する侵襲性細菌感染症を特徴とする疾患であり、遺伝子検査で MyD88 の機能喪失型変異が確認された場合に MyD88 と診断する。

D. 考察

自然免疫不全症はまれな疾患である。また自然免疫不全症では、一般臨床検査、臨床免疫学的検査だけでは確定診断できない場合が多い。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。

E. 結論

MyD88 欠損症の診断基準を作成した。今後、症例を蓄積し、海外の報告も参考にしながら、妥当性を検討していきたい。特に、臍帯脱落遅延、迅速診断法の有用性については、今後確認が必要である。

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。

自然免疫異常

その他の自然免疫不全症の診断基準・診断フローチャートの策定に関する研究

研究分担者 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
研究協力者 大西 秀典 岐阜大学医学部附属病院小児科
金子 英雄 国立病院機構長良医療センター臨床研究部

研究要旨

自然免疫異常による免疫不全症は、抗体産生能の欠損等が主症状である獲得免疫の異常とは異なり、主に病原体が生体内に侵入した際に通常発現すべきサイトカインネットワークの障害に起因して引き起こされる免疫不全症の総称である。代表的な疾患として IRAK4 欠損症では、Toll 様受容体による病原体分子パターンの認識により誘導される炎症性サイトカイン産生が障害されている。本研究では、主にウイルス感染症に対して易感染性を示す自然免疫異常の診断基準について作成した。対象とした疾患は、(家族性)単純ヘルペス脳炎、重症ウイルス感染症を示す免疫不全症(常染色体劣性遺伝 STAT1 欠損症、STAT2 欠損症、IRF7 欠損症、CD16 欠損症、MCM4 欠損症)、HPV 易感染症(疣贅状表皮発育異常症、WHIM 症候群)である。これらに加え、診断基準未策定の自然免疫不全症である、トリパノソーマ病、孤立性無脾症についても策定した。

A. 研究目的

原発性免疫不全症の分類のうち、“自然免疫不全症”に含まれる6疾患、(家族性)単純ヘルペス脳炎、重症ウイルス感染症を示す免疫不全症、WHIM 症候群、疣贅状表皮発育異常症、トリパノソーマ病、孤立性無脾症について診断基準及び診断フローチャートの作成を行った。

B. 研究方法

WHIM 症候群、疣贅状表皮発育異常症を除く4疾患については、責任遺伝子の同定が比較的最近であり、ほとんどが少数例の報告しか存在しないため、基本的には原著英語論文を参照し、臨床症状、検査所見、責任遺伝子情報を抽出し作成した。

C. 研究結果

各疾患の診断基準及び診断フローチャートを参照。

D. 考察

2015 年に発表された IUIS の原発性免疫不全症の分類では、(家族性)ヘルペス脳炎の責任遺伝子として *UNC93B1*, *TLR3*, *TRAF3*, *TRIF*, *TBK1* の5遺伝子が掲載されているが、2015年に新たに *IRF3*が報告されたため診断基準に追加している。本疾患の病因は主に中枢神経系における TLR3 シグナル伝達経路の異常に起因すると想定されているが、既知疾患では皮膚線維芽細胞からの HSV-1 刺激により誘導される I 型 IFN 産生が低下することが知られており、ヘルペス脳炎罹患患者で前述の6遺伝子に新規変異が同定された場合、また病的変異が同定されない場合も含め、患者皮膚線維芽細胞を使用した検討が必要になる可能性がある。またヘルペス脳炎罹患患者全体では TLR3 シグナル伝達経路の遺伝子異常が発見される可能性は高いことにも留意する。

重症ウイルス感染症を示す免疫不全症には、2013年(2014年)に発表された IUIS の原発性免疫不全症の分類では、MCM4 欠損症が含まれていたが、2015 年度版では”免疫不全を伴う特

徴的な症候群”に移動されている。今回の診断基準策定においては、MCM4 欠損症も含めて作成した。また IUIS 分類では STAT2 欠損症と病因が共通であり、弱毒麻疹ウイルス接種後に重症ウイルス感染をきたす疾患として IFNAR2 欠損症が 2015 年度に報告されているため、これも追加している。乳幼児期に重症ウイルス感染を示し、免疫不全症が疑われた場合、重症複合免疫不全症の場合、診断・治療を迅速に行わなければならないため、診断フローチャート上、優先的に鑑別するよう上位に記載している。

WHIM 症候群は、疣贅状表皮発育異常症 (EV)と同様に HPV に易感染性を示す疾患であるが、EV とは異なりコマーシャルベースの検査で異常(好中球減少、免疫グロブリン低下、骨髄でミエロカテキシス)を認め、HPV 以外の病原細菌に対しても易感染性を示す点に留意する必要がある。

トリパノソーマ病は、一般にヒトには病原性を有しないとされるトリパノソーマ原虫群による感染症を起こす遺伝性疾患であり、ヒトに病原性を有するトリパノソーマ原虫群による感染(アフリカ睡眠病、シャーガス病)は除外される。

孤立性無脾症は、IRAK4 欠損症と同様に化膿性細菌に対して易感染性を示すが、LPS 応答性は正常である。超音波検査等の画像検査で診断されるが、先天性心疾患等の他の内臓奇形を合併するものは除外される点に留意が必要である。

E . 結論

その他の自然免疫不全症(単純ヘルペス脳炎、重症ウイルス感染症を示す免疫不全症、WHIM 症候群、疣贅状表皮発育異常症、トリパノソーマ病、孤立性先天性無脾症)について診断基準及び診断フローチャートを策定した。

F . 研究発表

当研究に直接関連した発表はない。

H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

- 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

先天性補体欠損症
「先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫」の診断基準の作成について

研究協力者 堀内 孝彦 九州大学病院別府病院 免疫・血液・代謝内科

研究要旨

補体は30余りの分子によって構成されており、1)前期反応成分、2)後期反応成分、3)補体制御因子ならびに補体受容体に分類される。1)と2)は直接補体活性化のカスケードに関わる分子群である。先天性の欠損によって細菌へ易感染性になるとともに1)では自己免疫疾患を併発する場合がある。一方、3)の欠損症はそれぞれの分子の機能不全に起因した病態を呈し、遺伝性血管性浮腫、非典型的溶血性尿毒症候群、加齢黄斑変性、発作性夜間血色素尿症など多岐にわたる疾患を招来する。

この中から、1)と2)の先天性欠損を先天性補体欠損症として統合して断基準を作成する。また遺伝性血管性浮腫は近年治療法が進歩しているが、わが国ではその実態が不明であり臨床試験も遅れている。私どもが一般社団法人日本補体学会と連携して2011年に開始した患者レジストリーをもとに遺伝性血管性浮腫の診断基準を作成する。

A. 研究目的

本研究では先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫について、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。

B. 研究方法

今回、先天性補体欠損症として検討した補体成分は、補体活性化のカスケードに関わる前期補体成分、後期補体成分の欠損症である。これら経路の先天性欠損によって、細菌に対する易感染性が生じるとともに全身性エリテマトーデス(SLE)などの自己免疫疾患を併発する場合がある。過去の文献や自験例を参考に診断基準案を作成した。

また遺伝性血管性浮腫は、さまざまな部位に突発性の浮腫を生じる。補体C1インヒビター(C1-INH)欠損によって生じる症例とそれ以外の原因で生じる症例がある。われわれが設立したNPO法人 血管性浮腫情報センター

(<http://create2011.jp/index.html>)が一般社団法人日本補体学会と連携して運営している患者レジストリーに登録された患者情報に基づいて診断基準案を作成した。なお補体遺伝子異常は、MLPA、PCR-SSCP、direct sequencingなどの方法を用いて解析した。

(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。本研究についてはまた、九州大学倫理審査委員会及び、遺伝子解析に関わる倫理審査委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

先天補体欠損症

1) 臨床症状

一部の例外を除き、常染色体劣勢の遺伝形式をとる。

1. 易感染性

細菌感染症を繰り返す。とくに後期補体成分(C5、C6、C7、C8、C9)欠損症、第二経路(B、D、P因子)欠損症では、髄膜炎菌、淋菌などのNeisseria属の細菌に感染しやすい。

2. 免疫複合体病

古典経路に属するC1、C4、C2などの欠損症では全身性エリテマトーデス(SLE)などの免疫複合体病をしばしば合併する。

2) 検査所見

1. 古典経路、後期補体成分の欠損では、血清補体価(CH50)は感度以下まで低下する。ただしC9欠損症は例外であり、正常値の25~40%程度の値を示す。

2. 第二経路、レクチン経路の欠損症ではCH50は正常である。

3. ACH50は第二経路の欠損症では低下する。

4. 各補体成分の遺伝子変異(ホモ接合体あるいは複合ヘテロ接合体)を認める。

3) 除外基準

1. Cold activation: 試験管内でのArtifactとして補体が活性化されCH50が低下する。EDTA採血では正常化する。
2. 免疫複合体病: SLEなどの自己免疫疾患、低補体血症性蕁麻疹様血管炎、クリオグロブリン血症性血管炎、悪性関節リウマチ
3. 急性糸球体腎炎
4. 肝硬変

4) 診断基準

CH50、C3、C4を用いてのスクリーニングが実用的である。下記の1.2.がある場合、除外基準の疾患を除外したうえで、3.を施行する。

1. CH50が著しく低下している。
2. 発症者が小児期から感染症を繰り返している。
3. 各成分のタンパク濃度の測定を行う。低下を確認すれば、家族内での常染色体劣性遺伝形式であることを証明する。
4. タンパクが低下した成分について遺伝子解析を行い、遺伝子異常を同定できれば診断は確定的である。
5. なお第二経路、レクチン経路の欠損症はCH50では検出できないが、前者ではACH50が低下している。

遺伝性血管性浮腫

1) 臨床症状

症状は24時間で最大となり数日で自然に消褪する。わが国ではほとんどがC1-INH遺伝子異常であり、常染色体優性遺伝形式をとるが、一部孤発例もある。

1. 皮下浮腫、粘膜下浮腫: とくに眼瞼、口唇、四肢に生じやすく、non-pitting edemaである。
2. 消化器症状: 腹痛、嘔気、嘔吐、下痢
3. 喉頭浮腫: 窒息で死亡することがある。

2) 検査所見

補体C4は発作時にはほぼ100%低下、非発作時でも98%で低下

1. CH50も低下しているが、補体C3は正常である。
2. C1-INH活性は50%未満であるが、多くは25%以下まで低下している。
3. C1-INHタンパク定量も低下していればI型HAE、タンパク量は正常であればII型HAEと診断する。II型HAEはC1-INHタンパクの機能異常である。
4. *SERPING1*遺伝子のヘテロ変異を認める。ただし遺伝性血管性浮腫の中でC1-INHに異常を認めない場合、III型HAEと診断される。

3) 除外基準

1. 後天性血管性浮腫
2. アレルギー性血管性浮腫
3. アンギオテンシン変換酵素阻害薬による血管性浮腫
4. 物理的刺激による血管性浮腫
5. 好酸球増多をともなう好酸球性血管性浮腫 (Gleich's syndrome)
6. 特発性血管性浮腫

4) 診断基準

1. 突発性の浮腫
 2. 補体C4、C1-INH活性が低下
 3. 家族歴
- の3つがあればHAE I型、II型と診断できる。
1. と3. のみの場合、HAE III型の可能性がある。
 4. 確定診断のためには、*SERPING1*遺伝子の異常の同定が望ましい。HAE III型の一部では凝固第XII因子の遺伝子異常が報告されているが、わが国での報告はない。

D. 考察

先天性補体欠損症は希な疾患であるが、とくに小児の再発性感染症の鑑別疾患として重要である。2015年4月以降補体の詳細な検査を施行できる施設がなくなったことは問題であり、タンパクレベル、遺伝子レベルで解析する方法の確立が必要である。

遺伝性血管性浮腫は、わが国での実態が不明であったが、現在全国レベルで患者レジストリーが進んでいる。今後、患者の臨床所見、遺伝子異常などの集計をさらに進めて、本研究へと還元したい。

E. 結論

先天性補体欠損症ならびに遺伝性血管性浮腫の診断及び重症度判定のためのガイドライン策定を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Horiuchi T: The ABC of angioedema; Ace inhibitor, Bradykinin, and C1-inhibitor are critical players. Intern. Med. 54(20):2535-2536, 2015 (Editorial)

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

原発性免疫不全症“ICF症候群”の原因遺伝子の同定

研究分担者 高田 英俊 九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 教授
研究協力者 伊藤 雄哉 九州大学生体防御医学研究所ゲノム制御学部門
エピゲノム制御学分野 大学院生

研究要旨

ICF (Immunodeficiency, Centromeric instability, and Facial anomaly) 症候群は原発性免疫不全症候群に分類される稀な常染色体劣性遺伝病で、患者は成熟 B 細胞を有さず低 グロブリン血症を呈し、重症感染症に繰り返し罹患する。ICF 症候群はエピジェネティクス関連疾患であり、セントロメア近傍の反復配列 (サテライト 2・3) の DNA メチル化の低下と、それに伴うヘテロクロマチン構造の不安定性に起因する染色体構造異常を特徴とする。ICF 症候群の約半数を占める 1 型 ICF 症候群の原因遺伝子は *de novo* DNA メチル化酵素 *DNMT3B* である。*DNMT3B* に変異を持たない ICF 症候群はサテライト 2・3 の DNA メチル化の低下に加えて、セントロメアの サテライト領域の DNA メチル化の低下を合併する。このような ICF 症候群の約半数の原因遺伝子として *ZBTB24* (2 型 ICF 症候群) が同定されていたが、残りの約半数で原因遺伝子が未同定であったため、我々はそれらの原因遺伝子が未同定の患者でエキソーム解析を行い、5 人で *CDCA7* (3 型 ICF 症候群) を、さらに 5 人で *HELLS* (4 型 ICF 症候群) を原因遺伝子として同定した。(Thijssen, *et al.*, Nat. Commun. (2015)). 同定された遺伝子はマウス胎仔線維芽細胞で DNA メチル化の維持に参与していた。本研究により、ICF 症候群の原因遺伝子は 90% 以上の患者で同定することが出来るようになった。

A . 研究目的

原発性免疫不全症で、エピジェネティクス関連疾患である ICF 症候群は稀な常染色体劣性遺伝病である。患者は低・無 グロブリン血症を呈す免疫不全、染色体の不安定性、顔貌異常を特徴とする。ICF 症候群はサテライト近傍のサテライト 2・3 の DNA メチル化の低下と、それに伴う 1・9・16 番染色体のヘテロクロマチン領域の不安定性に起因する染色体構造異常により診断することが出来る。ICF 症候群の約半数は DNA メチル化酵素である *DNMT3B* に変異を持つ。*DNMT3B* に変異を持たない ICF 患者は、サテライトの DNA メチル化の低下を呈する。それらの患者の半数で、機能未

知だが、血球の分化を調整する ZBTB タンパクファミリーに属する *ZBTB24* が原因遺伝子として同定されたが、残り半数では原因遺伝子は同定されていなかった。我々はそれらの患者の原因遺伝子を同定することで、ICF 症候群の診断を確実なものとし、さらにそれらの遺伝子の機能を解析することで、免疫不全症とエピジェネティックな制御機構を解明することを目指とした。

B . 研究方法

ICF 症候群の特徴を有し、サテライト 2・3 と サテライトの DNA メチル化の低下を呈する ICF 症候群患者で、原因遺伝子の同定され

各患者の genomic DNA を 500ng 用い、SureSelect Human All Exon V5 kit で DNA ライブラリーを作製した。シーケンシングを Illumina HiSeq2500 で 行い 100bp の paired-end reads でデータ解析を行った。Read データは Burrows-Wheeler Alignment tool (BWA v0.7.4) で reference human genome (UCSC hg19)にマッピングした。重複リードを Picard (v1.87)で除去し、Genome Analysis Toolkit (GATK v2.5-2)を用いて、SNV と Indel をコールした。Annotate Variation (ANNOVAR)でアノテーションを行った。患者に近親婚の情報がある、または示唆される患者がいたことから、Homozygosity mapping の手法を用いた。SNV、Indel の中で、ホモ接合性領域が連続する領域内に存在する非同義アミノ酸置換を引き起こすホモ接合性のものを抜き出し、それらの中でアレル頻度が 1%以下のもの、または新規のものを抜き出した。出てきた遺伝子の中で、患者間で共通の遺伝子に変異をもつものを同定した。

同定した遺伝子変異については、PCR を使
って Sanger シーケンスで確認した。

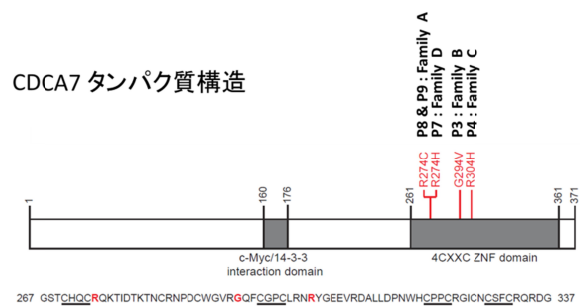
(倫理面への配慮)

全患者サンプルは採取後、匿名化され処理された。患者またはその保護者に遺伝的解析の説明を行い、同意を得た。当研究は九州大学のヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会及び、Leiden 大学医療倫理委員会の承認を得て行われた。

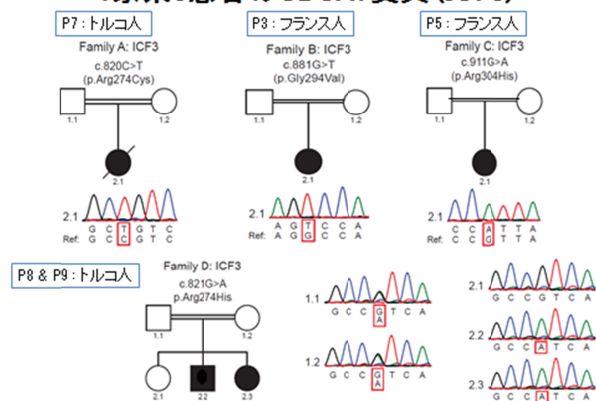
C. 研究結果

エキソーム解析に Homozygosity mapping の手法を用いて、ICF 症候群の新規原因遺伝子として4家系5人の患者で CDCA7 に遺伝子変異を、4家系5人の患者で HELLS に遺伝子変異を同定した。

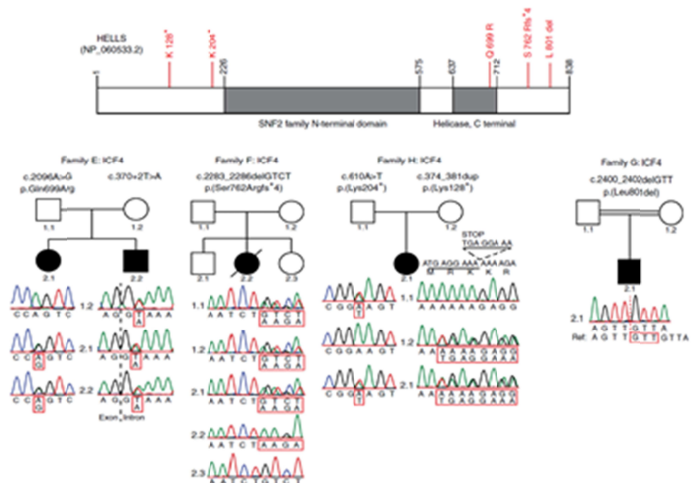
CDCA7 タンパク質構造



4家系5患者のCDCA変異(ICF3)



HELLS タンパク質における変異力所および 4 家系 5 患者の HELLs 変異 (ICF3)



CDCA7 の変異はすべてホモ接合性のミセンス変異で、4-CXXC のモチーフをもつ Zinc Finger ドメインの中に変異を認めた。HELLS の変異は 3 人の複合ヘテロ変異と 2 人のホモ接合性変異を認め、変異の起こった場所は様々であった。

我々は *CDCA7* に変異を持つ患者を 3 型 ICF 症候群、*HELLS* に変異を持つ患者 4 型 ICF

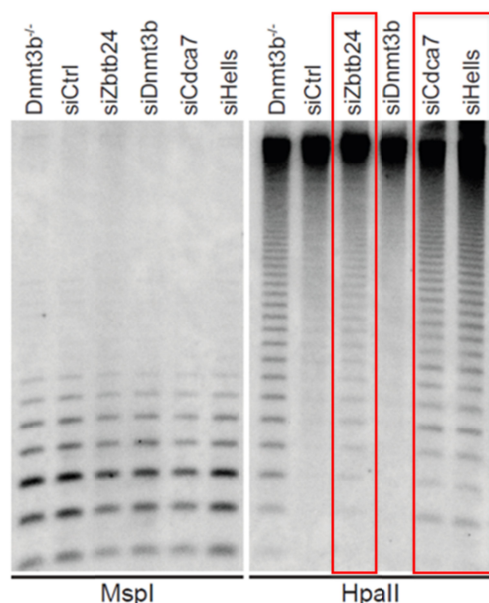
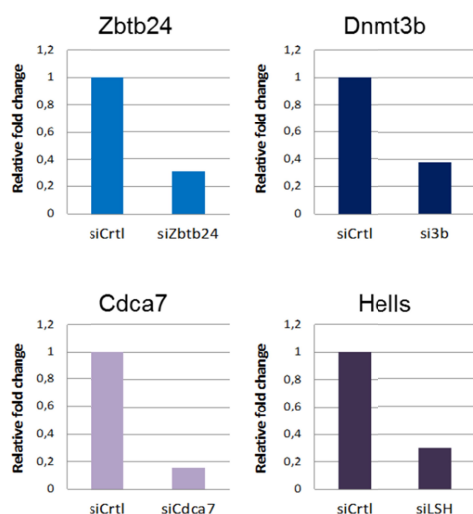
症候群として報告した。

この結果により、90%以上の ICF 症候群の患者の原因遺伝子を同定することが出来た。

ICF 症候群の分類	1型	2型	3型	4型	不明
原因遺伝子	<i>DNMT3B</i>	<i>ZBTB24</i>	<i>CDCA7</i>	<i>HELLS</i>	unknown
報告されている患者数	23	13	5	5	3
サテライト2、3のメチル化	低下	低下	低下	低下	低下
α -サテライトのメチル化	正常	低下	低下	低下	低下

同定したこれらの遺伝子をマウス胎仔線維芽細胞において siRNA を用いてノックダウンすると、セントロメア領域のマイナーサテライトにおいて、DNA メチル化の低下を認めた。

マウス胎仔線維芽細胞における ICF 症候群の原因遺伝子のノックダウンとサザン法による DNA メチル化解析



D. 考察

3 型 ICF 症候群の原因遺伝子の *CDCA7* は腫瘍形成や MYC 依存性のアポトーシス、造血幹細胞の出現に関わることが知られていたが、エピジェネティックな機能は知られていない。一方、4 型 ICF 症候群の原因遺伝子の *HELLS* はシロイヌナズナのオルソログである *DDM1* の変異体で Transposable element の DNA メチル化が低下すること、*HELLS* のノックアウトマウスにおいて、セントロメアの反復配列を含むゲノム全体の DNA メチル化が低下することが報告されていた。本研究で *CDCA7* と *HELLS* が ICF 症候群の原因遺伝子として同定され、DNA メチル化の維持に関与していることが示された。今後これらの遺伝子の機能をさらに解明することで、DNA のメチル化と免疫不全症の関わりに重要な示唆が得られる。また、まだ少数の患者で原因遺伝子がされていないため、これらの患者の原因遺伝子が同定されれば、ICF 症候群の病態解明、治療に向けて手がかりが得られる。

E. 結論

ICF 症候群の新規原因遺伝子として *CDCA7* と *HELLS* の 2 つの遺伝子を同定した。マウス胎仔線維芽細胞におけるノックダウン実験により、これらの遺伝子が DNA メチル化の維持に関与していることがわかった。

本実験により 90%以上の ICF 患者の原因遺伝子が同定できた。このことは原発性免疫不全症の早期診断、治療介入に有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Thijssen, P. E. et al. Mutations in *CDCA7* and *HELLS* cause immunodeficiency, centromeric instability, facial anomalies syndrome. Nat. Commun.6:7870 doi: 10.1038/ncomms8870 (2015).

2. 学会発表

- 1) 2014 年 11 月 20・21 日 第 59 回日本人類遺伝学会 ポスター発表。
- 2) 2015 年 5 月 25 日 第 9 回日本エピジェネティクス研究会年回 ショートトーク。
- 3) 2015 年 10 月 15・16 日 第 60 回日本人類遺伝学会 ポスター発表。

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

特になし

PTEN 異常による免疫不全症について

研究代表者 野々山 恵章 防衛医科大学校小児科学講座
研究協力者 関中 佳奈子 防衛医科大学校小児科学講座

研究要旨

Activated PI3K-delta Syndrome (APDS)は、近年報告された原発性免疫不全症で、*PIK3CD*、*PIK3R1* が責任遺伝子として報告されている。今回我々は、新たに、*PTEN*機能喪失変異が APDS を引き起こしうることを証明した。

A．研究目的

我々は複合型免疫不全症を呈する患者のエクソーム解析の結果から、PTEN 異常による原発性免疫不全症を世界で初めて同定した。本疾患における PI3K/Akt/mTOR シグナル伝達の異常と抗体産生不全・T細胞機能異常を含めた免疫不全症発症との関わりを明らかにし、迅速な診断及び適切な治療法を開発することを目的とする。

B．研究方法

APDS様の臨床症状を呈し、エクソーム解析によりPTEN変異を同定した患児2名に加えて、PTEN変異によるCowden症候群父子の計4例のPTEN異常症患者でAkt/mTOR/S6シグナル伝達解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究内容については、防衛医科大学校倫理審査委員会の承認を得ている。

C．研究結果

APDS様の免疫不全症状を呈した2例では、リンパ球減少、グロブリン値の異常、リンパ球FACS解析の異常など、APDS患者と多くの共通点を認めた。

活性化Tリンパ球でのAkt/mTOR/S6解析では、PTEN異常症患者4名全例で、リン酸化亢進を認めた。

D．考察

PTEN異常症患者の中でも免疫不全症状は様々であり、免疫不全症発症の機序については

さらに検討が必要である。

E．結論

*PTEN*機能喪失変異は、リンパ球におけるAkt/mTOR/S6リン酸化亢進を引き起こし、APDS様の臨床症状を呈したことから、*PTEN*はAPDSの新しい責任遺伝子となり得ることが示された。

F．研究発表

1. 論文発表

1) PTEN Mutation Can Cause Activated PI3 Kinase Delta Syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 (revised manuscript 投稿中).

2) Activated PI3K syndrome患者の臨床的・免疫学的特徴;日本臨床免疫学会会誌、37巻、350、2014年.

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

フローサイトメトリーを用いた APDS の診断

研究分担者 小林 正夫(広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学)

研究要旨: 近年、Class I PI3 キナーゼ (PI3K) に属する触媒サブユニット p110 (責任遺伝子 *PIK3CD*)、調節サブユニット p85 (責任遺伝子 *PIK3R1*) の各遺伝子変異による新しい原発性免疫不全症として、APDS/APDS2 (以下 APDSs) が報告された。APDSs は反復性気道感染、リンパ節過形成、抗体産生不全、EBV/CMV に対する易感染性といった同様の臨床症状を特徴とする。

APDSs では PI3K-AKT-mTOR シグナル経路の過剰な活性化が病態に関与する。フローサイトメトリーを用いた末梢血リンパ球解析では、患者末梢血 B 細胞 (CD19+) は定常状態において健常者に比して AKT のリン酸化が有意に亢進していたが、p110 阻害薬処理後では患者と健常者の間にリン酸化の差は認められなかった。末梢血 T 細胞 (CD3+)、NK 細胞 (CD16+CD56+)、単球 (CD14+) では定常状態、p110 阻害薬処理後のいずれの状態でもリン酸化の差は明らかではなかった。さらに、APDSs において特徴的な transitional B 細胞の増加に着目し、CD19+CD10+ immature B 細胞における AKT のリン酸化を解析することでさらに正確な患者の層別化が可能となることが明らかとなった。

本結果から、患者末梢血 B 細胞を用いた AKT の過剰リン酸化を同定することで、APDSs の迅速診断が可能となると考えられた。本疾患は近年報告された新しい免疫不全症であり、CVID や高 IgM 症候群と診断されている患者の中に未診断例が潜在している可能性が高いと考えられる。それらの早期診断は早期治療介入に繋がるだけでなく、未だ原因が不明である APDSs が免疫不全を引き起こす分子基盤の解明にも寄与する可能性もある。

A. 研究目的

APDS (activated PI3K syndrome) は、反復呼吸感染、進行性気道障害、リンパ球減少、抗体産生不全、EBV・CMV に対する易感染性を特徴とする原発性免疫不全症である。Class I PI3 キナーゼに属する触媒サブユニット p110 (責任遺伝子 *PIK3CD*) の機能獲得型変異により発症し、2013 年に発見されて以降、既に 40 症例以上の APDS 患者が本邦で同定されている。さらに、APDS に類似した原発性免疫不全症 (APDS2) が、p110 と 2 量体を形成する調節サブユニット p85 (責任遺伝子 *PIK3R1*) のヘテロ接合性変異で発症することが報

告され、本邦では現在 5 例の患者が同定されている。また、PI3K-AKT シグナル経路における脱リン酸化酵素である PTEN (責任遺伝子 *PTEN*) の機能喪失型変異による PTEN 異常症も APDS の類縁疾患と考えられている。

APDS/APDS2 は、臨床症状の類似性から高 IgM 症候群や分類不能型免疫不全症 (CVID) と診断されることも多く、誤診例、潜在的な未診断症例が多数存在すると考えられる。APDS/APDS2 患者の適切な診断を目的に、フローサイトメトリーを用いた迅速診断法の確立を試みる。

B . 研究方法

APDSs では PI3K が過剰に活性化され下流の分子である AKT が過剰に活性化されることが知られている。APDSs 患者、健常者、CVID 患者 (disease control) 由来末梢血単核球における細胞内 AKT のリン酸化をフローサイトメトリーを用いて検討した。CD3 陽性 T 細胞、CD19 陽性 B 細胞、CD16 陽性 CD56 陽性 NK 細胞、CD14 陽性単球、各細胞群における検討を行った。AKT のリン酸化は、定常状態と p110 阻害薬処理後の 2 条件で比較検討を行った。

C . 研究結果と考察

図 1 (右上) に APDS2 患者における各細胞群における AKT のリン酸化解析の結果を示す。患者 CD19 陽性 B 細胞での検討では、定常状態で健常者に比して AKT のリン酸化が優位に亢進しているのに対して、阻害薬処理後では健常者と比してリン酸化の差を認めなかった。disease control として行った CVID 患者の CD19 陽性 B 細胞を用いた検討では健常者と同様に AKT のリン酸化亢進は認めなかった。その他の細胞分画における検討では、健常者と患者における AKT のリン酸化の差異は認めなかった。

図 2 に APDS2 患者 4 例の CD19 陽性 B 細胞を用いたフローサイトメトリーでの AKT リン酸化解析結果を示す。患者末梢血 CD19 陽性細胞は定常状態において AKT のリン酸化が健常者に比して有意に亢進するが、阻害薬処理後には患者と健常者のリン酸化の差は認めなくなることが示された。ここから定常状態と阻害薬処理後の MFI の差 (MFI) が重要であると考えられた。

図 2 : APDS2 における AKT リン酸化解析結果のまとめ

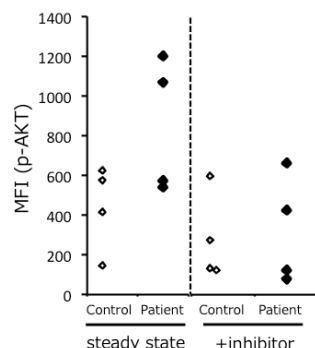


図 1 : 各細胞分画における AKT リン酸化の比較

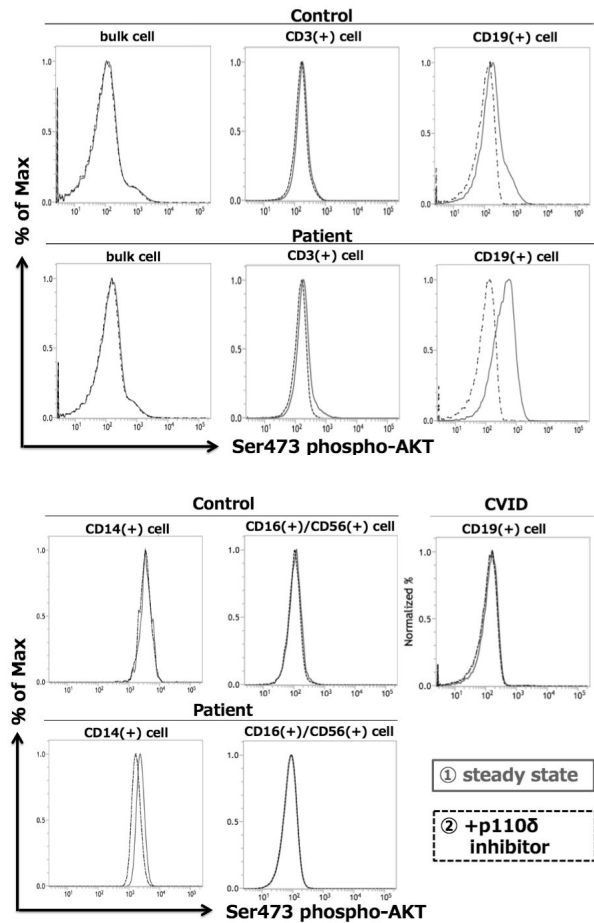
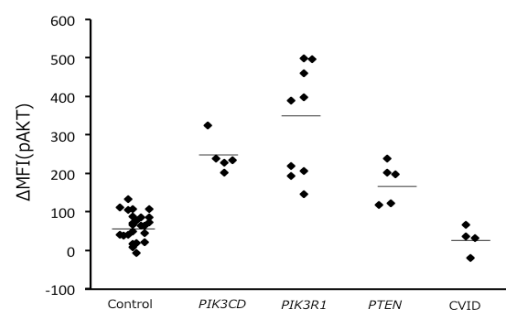


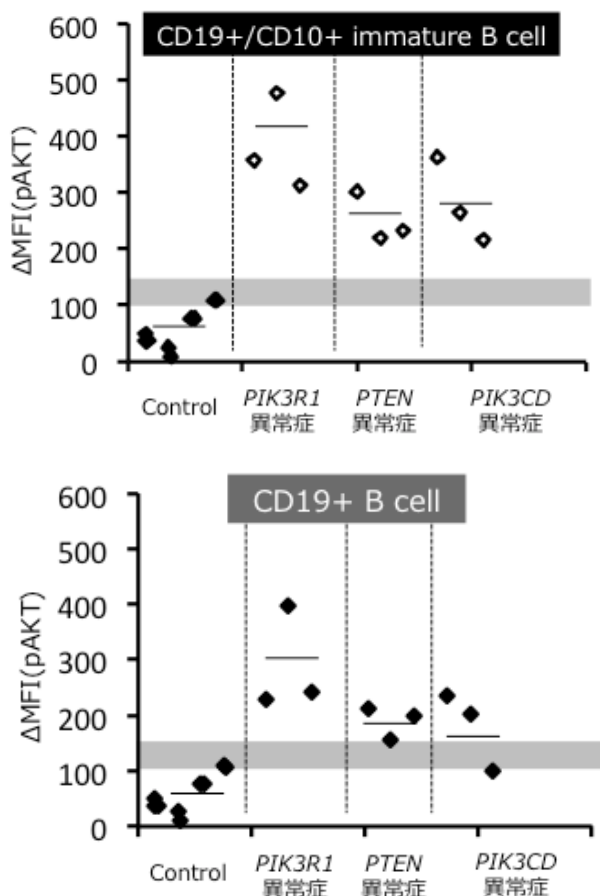
図 3 に PI3K 異常症 (APDS (4 例) \ APDS2 (4 例) \ PTEN 異常症 (4 例)) における AKT リン酸化の MFI を用いた検討のまとめを示す。患者では健常者、CVID 患者に比して MFI が有意に高いことが示された。ここからフローサイトメトリーを用いて CD19 陽性 B 細胞にて AKT リン酸化解析を行うことで APDSs の診断が可能となると考えられた。

図 3 : PI3K 異常症における AKT リン酸化のまとめ



しかし、一部偽陰性となる例も認められたことから、より精度を高め、さらなる層別化が可能となるか検討した。そこで APDSs では transitional B 細胞が増加するという特徴に着目し、CD19 陽性 CD10 陽性 immature B 細胞分画 (transitional B 細胞に相当) CD19 陽性 CD10 陰性 mature B 細胞分画における AKT リン酸化の比較検討を行った。結果を図 4 に示す。CD19 陽性 CD10 陽性 immature B 細胞分画では、その他の分画に比して患者において顕著に AKT のリン酸化が亢進することが示された。CD10 を用いた解析を行うことで、前述法で偽陰性となる患者についても正しく層別化できることが示され、より精度の高い診断が可能となると考えられた。

図 4 : CD10 を用いた AKT リン酸化解析



D . 結論

APDS は、CD19 陽性 B 細胞における AKT のリン

酸化をフローサイトメトリーで検討することから診断が可能となる。本方法を用いることで、新規発症症例の診断が可能となると同時に、CVID や高 IgM 症候群などの中に現在潜在している患者のスクリーニングが可能となる。また、APDS の免疫学的特徴に着目した検討を行うことでさらに精度の高い診断が可能となる。

また本方法に関し今後さらなる解析をすすめることで、APDS の分子病態のさらなる解明に繋がることも期待される。

E . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Sakata S, Ueno Y, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M: A patient with CTLA-4 haploinsufficiency presenting gastric cancer. *J Clin Immunol* 36: 28-32, 2016.
- 2) Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, Okuno Y, Sakaguchi H, Nishio N, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, Hama A, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Kobayashi M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. *Haematologica* 100: 1546-52, 2015.
- 3) Ma CS, Wong N, Rao G, Avery DT, Torpy J, Hambridge T, Bustamante J, Okada S, Stoddard JL, Deenick EK, Pelham SJ, Payne K, Boisson-Dupuis S, Puel A, Kobayashi M, Arkwright PD, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Minegishi Y, Mahdavian SA, Mansouri D, Bousfiha A, Blincoe AK, French

- MA, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Smart JM, Fulcher DA, Cook MC, Phan TG, Stepensky P, Boztug K, Kansu A, İkinçioğullari A, Baumann U, Beier R, Roscioli T, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Tangye SG: Monogenic mutations differentially affect the quantity and quality of T follicular helper cells in patients with human primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 136: 993-1006, 2015.
- 4) Kobayashi M: Neutrophil disorders: diagnosis and hematopoietic stem cell transplantation. *Rinsho Ketsueki* 56: 2230-9, 2015.
 - 5) Okada S, Markle JG, Deenick EK, Mele F, Averbuch D, Lagos M, Alzahrani M, Al-Muhsen S, Halwani R, Ma CS, Wong N, Soudais C, Henderson LA, Marzouqa H, Shamma J, Gonzalez M, Martinez-Barricarte R, Okada C, Avery DT, Latorre D, Deswarte C, Jabot-Hanin F, Torrado E, Fountain J, Belkadi A, Itan Y, Boisson B, Migaud M, Arlehamn CS, Sette A, Breton S, McCluskey J, Rossjohn J, de Villartay JP, Moshous D, Hambleton S, Latour S, Arkwright PD, Picard C, Lantz O, Engelhard D, Kobayashi M, Abel L, Cooper AM, Notarangelo LD, Boisson-Dupuis S, Puel A, Sallusto F, Bustamante J, Tangye SG, Casanova JL: Impairment of immunity to *Candida* and *Mycobacterium* in humans with bi-allelic RORC mutations. *Science* 349: 606-13, 2015.
 - 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 Aug 1. pii: S0091-6749(15)00881-7. doi: 10.1016/j.jaci.2015.06.028. [Epub ahead of print] No abstract available. PMID: 26242301
 - 7) Hirata O, Okada S, Tsumura M, Karakawa S, Matsumura I, Kimura Y, Maihara T, Yasunaga S, Takihara Y, Ohara O, Kobayashi M: Mosaicism of an ELANE mutation in an asymptomatic mother in a familial case of cyclic neutropenia. *J Clin Immunol* 35: 512-6, 2015.
 - 8) Wilson RP, Ives ML, Rao G, Lau A, Payne K, Kobayashi M, Arkwright PD, Peake J, Wong M, Adelstein S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Picard C, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Gray P, Stepensky P, Warnatz K, Freeman AF, Rossjohn J, McCluskey J, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Ma CS, Tangye SG, Deenick EK. STAT3 is a critical cell-intrinsic regulator of human unconventional T cell numbers and function. *J Exp Med* 212: 855-64, 2015.
 - 9) Yoshioka A, Ishii E, Ueno T, Usami I, Kobayashi M, Kobayashi R, Sotomatsu M, Shirahata A, Suzuki T, Taki M, Ishida Y, Matsushita T, Shima M, Nogami K, Sakai M, Kigasawa H, Fukutake K: The International Immune Tolerance Induction Study and its follow-up study on Japanese hemophilia A

patients with inhibitors. *Int J Hematol* 101: 362-8, 2015.

- 10) Nishikawa S, Toshima T, Kobayashi M: Perceived parenting mediates serotonin transporter gene (5-HTTLPR) and neural system function during facial recognition: A pilot study. *PLoS One* 10: e0134685, 2015.

2. 学会発表

- 1) Nishimura S, Tsumura M, Hirata O, Reiko Kagawa, Mizoguchi Y, Okada S, Kobayashi M: MSMD Patients with IFN- γ -STAT1 Signaling Defect Present Enhanced Osteoclastogenesis and Bone Resorption. The 57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Orlando, FL, Dec 5–8. 2015.
- 2) Saito S, Nishimura S, Tsumura M, Mizoguchi Y, Sakata S, Furue A, Kobayashi M: A comparison of myelopoiesis from induced pluripotent stem cells with a mutation in *ELANE* between cyclic neutropenia and severe congenital neutropenia. The 57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Orlando, FL, Dec 5–8. 2015.
- 3) Okada S, Markle J, Kobayashi M, Bustamante J, Casanova JL: Impairment of IL-17 immunity to *Candida* and IFN immunity to *Mycobacterium* in humans with bi-allelic *Rorc* mutations. The 57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Orlando, FL, Dec 5–8. 2015.
- 4) Nishimura S, Tomioka K, Mizoguchi Y, Karakawa K, Miki M, Kawaguchi K, Nakamura K, Kobayashi M: Successful retransplantation of bone marrow cells

following failure of initial engraftments in 4 SCN patients. The 12th Asian Society for Pediatric Research, Osaka, Japan, April 15-18, 2015.

- 5) Saito S, Mizoguchi Y, Furue A, Chijimatsu I, Miki M, Tomioka T, Konishi N, Ono A, Kawaguchi H, Nakamura K, Kobayashi M: Early elimination of FVIII inhibitor in congenital hemophilia A cases with inhibitors by immune tolerance induction with a high dose of immunoglobulin. The 12th Asian Society for Pediatric Research, Osaka, Japan, April 15-18, 2015.
- 6) 小林正夫: 好中球異常症：診断と造血幹細胞移植. 第77回日本血液学会教育講演22 2015年10月18日 金沢.

F . 知的財産権の出願・登録状況 特になし

九州における家族性血球貪食症候群(FHL)の現状

石村 匡崇¹⁾, 江口 克秀¹⁾, 園田 素史¹⁾, 白石 暁¹⁾,
興梠 雅彦³⁾, 松本 志郎³⁾, 橋本 邦生⁴⁾, 高田 英俊¹⁾²⁾

1)九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 2)九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学
3)熊本大学医学部小児科 4)長崎大学医学部小児科学教室

研究要旨

家族性血球貪食症候群(FHL)は Perforin や Perforin を含む細胞傷害顆粒放出機構の異常により発症する稀な原発性免疫不全症である。血球貪食性リンパ組織球症(HLH)を唯一の表現型とし、確定診断には蛋白発現解析、NK 細胞活性測定や遺伝子検査を必要とする。今回我々が診断に携わった九州内の FHL 症例を検討し報告する。2012 年 1 月から 2015 年 9 月で FHL と確定診断した症例は 7 例であった。病型は、FHL2 が 6 例、FHL3 が 1 例であった。FHL2 は全例生後 1 か月までに発症し、2 例は胎内発症であった。FHL3 の 1 例は 15 歳発症の late-onset であった。遺伝子変異の特徴として、FHL2 の 6 例中 4 例が PRF1 遺伝子に c.1090_1091delCT の変異を有しており、これまで本邦で多く報告されている変異を認めた。また、FHL2 の 1 例で Perforin 蛋白発現は認めるが機能異常を示す新規のミスセンス変異(*PRF1* c.311G>C, p.Arg104Pro)を同定した。蛋白発現解析のみでは診断に至らない症例もあり、診断に苦慮する症例では蛋白機能異常にも留意することが必要である。

A . 研究目的

家族性血球貪食症候群 (FHL) は Perforin や Perforin を含む細胞傷害顆粒放出機構の異常により発症する稀な原発性免疫不全症である。血球貪食性リンパ組織球症 (HLH) を唯一の表現型とし、確定診断には蛋白発現解析、NK 細胞活性測定や遺伝子検査を必要とする。遺伝子変異により 1 ～ 5 型に分類されているが、本邦では 2 型 (Perforin 欠損症:*PRF1* 変異) が 1/3、3 型 (Munc13-4 欠損症:*UNC13D* 変異) が 1/3、5 型 (Munc18-2 欠損症) が数%を占めるとされている¹⁾。日本人に多い *PRF1* 遺伝子の変異として、c.1090_1091delCT が 62.5%、c.207delC が 37.5%に認められたと報告されている²⁾³⁾。特に *PRF1*

c.1090_1091delCT 変異をもつ症例の家系をたどると、西日本、特に九州に起源をもつ症例が大半であったと報告された³⁾。

FHL は、診断後に適切な治療を行った場合でも生存率は約 30%程度であり、造血幹細胞移植を行った症例も 10 年生存率は 65%と非常に致死率の高い疾患である⁴⁾⁵⁾。生存例においても神経学的後遺症 (発達遅滞、てんかん、脳萎縮、難聴) が約 30%の症例にみられ⁵⁾、FHL は早急に適切な診断、治療を必要とする原発性免疫不全症である。今回我々は、当院で診断、治療に関わった九州の FHL 症例を解析し、九州における FHL の現況をまとめることを目的とした。

B . 研究方法

当院で 2012 年 1 月から 2015 年 9 月に HLH-2004 改訂に基づき HLH と診断し、蛋白発現解析、NK 細胞活性、遺伝子解析により FHL と診断した 7 症例を対象とした。Perforin 蛋白発現は、細胞内染色によるフローサイトメトリーにより行った。また、Perforin/Munc13-4 蛋白解析 (Western blotting) は、京都大学小児科八角先生に施行していただいた。細胞 killing assay (^{51}Cr release assay) は c.311G>C, p.Arg104Pro 変異に関し、過去報告された方法と同様の方法で解析していただいた⁶⁾ (Dr. Ilia Voskoboinik, Killer Cell Biology Laboratory Cancer Immunology Research, Peter MacCallum Cancer Centre, Australia)。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析は当院の倫理委員会で承認を受け、説明の上書面で保護者に同意をえてから解析を行った。

C . 研究結果

FHL を 7 例同定し、FHL2 が 6 例、FHL3 は 1 例であった (表 1)。全例 NK 細胞傷害活性を認めなかった。診断時年齢中央値は 25 生日で、FHL2 は全例生後 1 カ月以内に発症していた。FHL3 の 1 例は 13 歳発症の Late onset であった。性別は男性 3 名、女性 4 名であった。生存例は 4 例で、造血幹細胞移植を受けた 4 例が全例生存していた。肝不全により生体肝移植を施行した 1 例は、肝臓移植後に HLH が再燃し、造血幹細胞移植前に死亡した。出身地は、福岡県が 4 例 (うち FHL2 が 3 例、FHL3 が 1 例) で、長崎県、熊本県、宮崎県が 1 例であった。

遺伝子変異に関しては、FHL2 の 6 例のうち 4 例で c.1090_1091delCT を有しており、そのうち 1 例はホモ接合性変異であった。また、c.207delC を 1 例同定した。c.311G>G,

p.Arg390X 変異は 2 例でみとめられ、1 例はホモ接合性変異であった。ホモ接合性変異の 2 例はいずれも血族婚は認めなかった。症例 2 は Perforin 蛋白発現をフローサイトメトリー、Western blotting いずれの方法でも認めたが、NK 細胞傷害活性は 0% であった。PRF1 の c.311G>C, p.Arg104Pro 変異での killing assay で、本変異で細胞傷害能を認めず (図 1)、症例 2 は Perforin 機能異常による FHL2 と最終診断した。

臨床経過に関しては、発症時に HLH と診断された症例は 2 例のみで、肝ヘモクロマトーシス疑いが 3 例、悪性疾患疑いが 2 例であった (表 2)。肝不全合併例は 4 例で、うち 1 例に生体肝移植を行われたが、生体肝移植例も含め 3 例が死亡した。造血幹細胞移植まで至った症例は全例生存し、Mixed Chimera でも再燃は認めていない。ただし、生存 4 例中 3 例に神経学的後遺症をきたしていた。

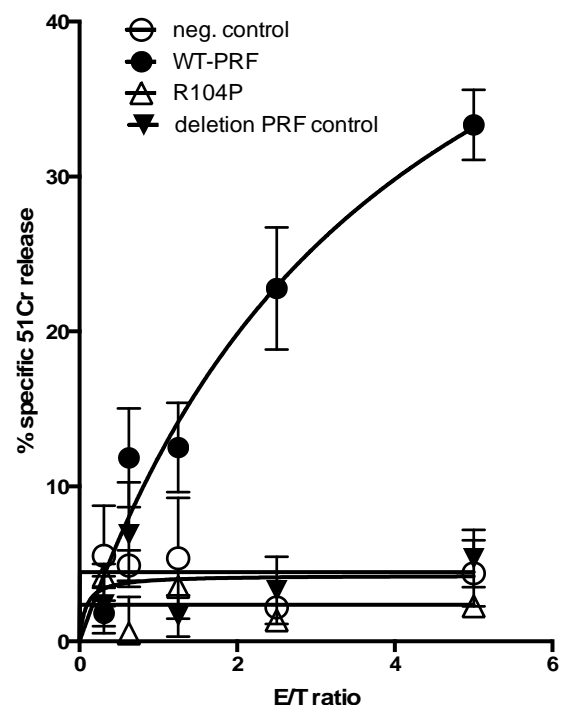


図 1. Killing assay (^{51}Cr release assay)

Perforin R104P 変異を一過性にマウス Prf1-/-CTL に導入し、Jurkat T 細胞株を標的細胞として ^{51}Cr 放出による細胞傷害活性を評価した。

D. 考察とまとめ

九州では FHL2 が多くを占めており、これまでの報告と同様 *PRF1* c.1090_1091delCT 変異を有する症例を多く認めた。その他、既報告の c.207delC や c.311G>G, p.Arg390X を認め九州に FHL2 が多いのは founder effect があると考えられた。初期診断から FHL を疑われた症例は 2 症例しかなく、胎内発症あるいは新生児期発症の原因不明の肝不全では予後が悪いため FHL を早期に鑑別する必要があると考えられた。早期に診断し、臓器障害が進行する前に造血幹細胞移植まで至れば FHL は救命し得るが、生存例でも神経学的後遺症をきたしている症例が多く、早期診断法および治療法の改善が望まれる。

Perforin 機能異常症の FHL2 を同定し、Perforin 蛋白発現を認める症例でも FHL を否定できないことが示された。そのため、FHL 診断において NK 細胞傷害活性測定や CTL killing assay が有用であると考えられた。

参考文献

1. 八角高裕 医学のあゆみ 238(11): 1048-1052 2011
2. Ishii E. et al., Crit Rev Oncol Hematol 2005, 53(3):209-23.
3. Ueda I. et al., Br J Haematol. 2003, 121(3): 503-10.
4. Suzuki N. et al., J Pediatr 2009, 155(2): 235-8.
5. Ohga S. et al., Pediatr Blood Cancer 2010, 54(2): 299-306.
6. Voskoboinik I et al., Blood 2005, 105(12): 4700-6

E. 研究発表

1. Yamamoto H, Ishimura M, Ochiai M, Takada H, Kusuhara K, Nakatsu Y, Tsuzuki T, Mitani K, Hara T: BTK gene targeting by homologous recombination

using a helper-dependent adenovirus/adeno-associated virus hybrid vector. Gene Ther 2015 (Epub ahead of print)

2. Takimoto T, Takada H, Ishimura M, Kirino M, Hata K, Ohara O, Morio T, Hara T: Wiskott-Aldrich syndrome in a girl caused by heterozygous WASP mutation and extremely skewed X-chromosome inactivation: a novel association with maternal uniparental isodisomy 6. Neonatology 107(3):185-90, 2015.
3. Takada H, Ishimura M, Takimoto T, Kohagura T, Yoshikawa H, Imaizumi M, Shichijyou K, Shimabukuro Y, Kise T, Hyakuna N, Ohara Osamu, Nonoyama S, Hara T: Invasive bacterial infection in patients with interleukin-1 receptor-associated kinase 4 deficiency. Medicine (Baltimore) (in press)

F. 知的財産の出願・登録状況

特になし

	病型	出身地	遺伝子変異	蛋白	NK 細胞 傷害活性
1	FHL2	宮崎	<i>PRF1</i> 遺伝子 c.1090_1091delCT, c.1168C>T; p.Arg390X	Perforin 欠損	0 %
2	FHL2	長崎	<i>PRF1</i> 遺伝子 c.1090_1091delCT, c.311G>C, p.Arg104Pro	Perforin 発現あり	0 %
3	FHL2	熊本	<i>PRF1</i> 遺伝子 c.1168C>T; p.Arg390X (Homo)	Perforin 欠損	0 %
4	FHL2	福岡	<i>PRF1</i> 遺伝子 c.207delC(Hetero)	Perforin 欠損	0 %
5	FHL2	福岡	<i>PRF1</i> 遺伝子 c.1090_1091delCT, c.1288_1289insG	Perforin 欠損	0 %
6	FHL2	福岡	<i>PRF1</i> 遺伝子 c.1090_1091delCT (Homo)	Perforin 欠損	0 %
7	FHL3	福岡	<i>UNC13D</i> 遺伝子 c.1240C>T, p.Arg414Cys, c.1992+1G>A	Munc13-4 欠損	0 %

表 1. FHL7 例の遺伝子・蛋白発現解析

	発症年齢	発症時診断	合併症	治療	転帰	治療後合併症
1	胎内	肝 ヘモクロマトーシス	肝不全	VP-16,DEX, CyA	死亡 (日齢 27)	-
2	胎内	肝 ヘモクロマトーシス	肝不全	VP-16,DEX,CyA, Lipo-DEX, HSCT	生存 (CC)	発達遅滞
3	日齢 24	HLH	なし	VP-16,DEX, CyA, HSCT(2 回)	生存 (CC)	なし
4	日齢 25	急性骨髄性白血病 (M7)	肝不全	VP-16,DEX CyA	死亡 (2 か月)	-
5	1 か月	HLH	頭蓋内出血	HLH-2004 HSCT	生存 (MC)	発達遅滞 症候性てんかん
6	1 か月	肝 ヘモクロマトーシス	肝不全	mPSL パルス, VP-16, DEX, 生体肝移植	死亡 (3 か月)	-
7	15 歳	末梢性 T 細胞性 リンパ腫	脳症	VP-16,DEX,CyA, it-MTX, HSCT	生存 (CC)	脳症後遺症 気管支拡張症

表 2.FHL7 例の臨床経過

CC: complete chimera, HSCT: 造血幹細胞移植, MC: mixed chimera,

乾燥ろ紙血を用いた原発性免疫不全症の新生児マススクリーニング臨床研究

研究分担者 小野寺雅史 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 部長
研究協力者 河合 利尚 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部 室長

(研究要旨) 原発性免疫不全症(PID)の早期診断は、生命予後に影響する。そこで、新生児の乾燥ろ紙血を用いて、新生児PIDマススクリーニングのパイロット研究を開始した。当院で出生した正期産の新生児を対象に、日齢5にろ紙血を採取し、DNAを抽出してTREC値を測定した。

これまで、303例についてスクリーニングを実施し2例が異常値を示したが、PIDは否定的だった。結果は生後平均 23.7 ± 5.3 日目に郵送で送付され、異常値を示した症例については速やかに電話連絡がなされ専門医による診療を受けた。本研究では、同意説明・取得から測定、結果送付、検査異常者への対応まで一連のシステムを単施設で構築した。今後、他施設の検体受入および外部施設への検査委託など、国内大規模スクリーニングを視野に入れた実施体制について検討を進める。

A. 研究目的

原発性免疫不全症(PID)は、病原体に対して易感染性を示す疾患群である。このうち、重症複合免疫不全症(SCID)は診断に急を要し、1歳までに根治的治療を行わないと生存率は極端に低下する。

また、昨今では生後6週から生ワクチンの接種が行われるようになり、未診断患児が医原性感染症を発症する可能性がある。安全な予防接種の在り方を考えたときこの問題は重大である。このように重症PID患者を感染症罹患前(新生児早期)に診断することで、重症感染症の無い状態で根治的治療を行うことができ、患者の生命予後の改善が期待される。そこで、本研究ではPID患者の早期診断を可能にする新生児スクリーニング法の確立を目指し、当センターで出生した新生児から得られた乾燥ろ紙血による微量サンプルを用いて新生児PIDマススクリーニング実

施体制を検証した。

B. 研究方法

当センター倫理委員会で承認された実施計画『乾燥ろ紙血を用いた免疫不全症のスクリーニング法の開発』を遵守し研究を行った。国立成育医療研究センター病院で『血液ろ紙を用いた微量サンプルによるポンペ病診断の開発』臨床研究のスクリーニングに参加し、本研究について保護者のインフォームドコンセントを取得した新生児を対象とした。被験者は、在胎37週以降、2500g以上で出生した児(新生児集中治療室の新生児を除く)で、乾燥ろ紙血からDNAを抽出し、定量PCR(Roche LightCycler 480システム)にてTRECとアクチンのコピー数を測定した。なお、ろ紙血は、『血液ろ紙を用いた微量サンプルによるポンペ病診断の開発』臨床研究のために採取された乾燥ろ紙血の残検体を用いた。

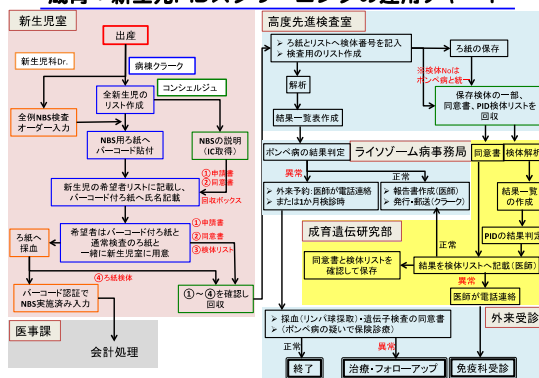
結果報告書を全例に郵送し、異常値を示した症例は当センター免疫科を受診するよう電話連絡を行った。

C. 研究結果

1. 実施体制の構築

新生児PIDマスキングの実施にあたり、新生児科と産科の医師、病棟事務職、高度先進検査室スタッフと連携し、下図の運用チャートに従って体制を整備した。両親への説明は女性コンシェルジュ3名が担当し、大きな混乱はなかった。定量PCR解析は、技術者1名が行い、医師が測定結果を判定した。

成育：新生児PIDスクリーニングの運用チャート



2. 新生児PIDスクリーニングに対する両親の関心

当センターでは、通常、出生後 5 日目に退院となるため、出産後 5 日以内に本研究の説明を母親あるいは父親へ行った。

今回、本研究の参加予定者は331名だったが、体調不良、不在、授乳中などの理由で本研究の説明を十分に受けられず、28名が不参加となった。303名(91.5%)が本研究へ参加し、不参加の症例を含めて、検査に対して否定的な意見はなかった。

3. 解析結果

これまでの報告を参考に、TRECのカットオフ値を40 copies/spotとした。同時に アクチ

ンを測定し、DNA抽出のコントロールとして用いた。その結果、TREC低値を示した検体は、303検体中2検体（0.6%）であった。この2症例は、免疫科外来で再検査とリンパ球サブセット解析を行い、SCIDを含む重症PIDは否定的であることが明らかとなった。

本研究ではPIDの早期診断を目的とすることから、出生日から解析結果送付までの期間について検討したところ、 23.7 ± 5.3 日（平均日数 \pm SD）であった。

4. 新生児PIDスクリーニング異常者の検討

本研究では、TRECの異常値が検出された場合、以下の手順で再検査を実施した。

- 1) 初回の定量PCRで異常値が検出された場合、初回パンチで抽出した残存DNAを用いて、再度、定量PCR解析。
- 2) 1)で異常値が検出された場合、保存ろ紙血を再パンチし、DNAを抽出して定量PCR解析。

今回、上記の1)、2)の再検査で異常値を示した症例は2例であった。このうち、1例は定量PCRのDuplication sampleの片方のみが検出感度以下であった。別の1例は、Duplication sampleの両方ともカットオフ値を下回っていた。この2例について、免疫科受診の際、再度、ろ紙血を採取しTRECを測定したところ、正常レベルであり、リンパ球サブセット解析や臨床症状の異常は認めなかった。

D. 考察

新生児マススクリーニングの対象疾患の条件として、「発病前に見つかる病気であること」、「新生児の負担にならない検査であること」、「制度の高い検査方法であること」などが提唱されている。そのため、今後も医学

の進歩に伴い対象疾患の増加が推測される。重症PIDであるSCIDは、感染症に罹患せず早期診断されることで、根治療法の治療成績は飛躍的に改善する。さらに、本研究班をはじめとする専門医療機関がPID診療の拠点病院として全国で機能しており、診断後の医療体制も整備されている。また、本研究の調査から、本マススクリーニングは家族からも要望されていることが明らかとなった。そのため、新生児PIDマススクリーニングは、医学的、社会的に必要性の高い検査と考える。

本スクリーニングでは、TREC値のカットオフを40 copies/spotと設定した。Jet van der Spekらの報告 (J Clin Immunol. 2015) によると、13論文で新生児315万人のシステマティックレビューから、典型的なSCID患者では、TRECカットオフ値25 copies/ulで100%の診断率であった。しかし、毛細血管拡張性運動失調症やDiGeorge症候群、ADA欠損症など、他のT細胞減少症の疾患も網羅するために、TRECカットオフ値を100 copies/ulとした報告もあった。また、本研究では早産児や先天性疾患を合併した新生児を除外している。そのため、今後、全ての新生児に対してPIDマススクリーニングを実施するためには、さらなる解析アルゴリズムの検討が必要と考える。

E. 結論

本研究では、同意説明・取得から測定、結果送付、検査異常者への対応まで一連の新生児PIDマススクリーニング/診療システムを単施設で構築した。本マススクリーニングは、重症PIDスクリーニング検査として医学的に有用であり、社会的に要望の高い検査である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakazawa Y, Kawai T, Uchiyama T, et al.: Effects of Enzyme Replacement Therapy on Immune Function in ADA Deficiency Patient. Clin Immunol. 2015 Dec;161(2):391-3.

2. 学会発表

Kawai T, Goto F, Nakazawa Y, et al.: A Gene Therapy Clinical Study of a Patient with Chronic Granulomatous Disease, JSGCT, 2015, Osaka

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

研究分担者 小原 収 かずさDNA研究所 副所長

研究要旨

臨床情報の蓄積と原発性免疫不全症の確定診断を進めるために、本研究班からの臨床情報蓄積と研究班員から依頼された確定診断に向けた遺伝子解析を継続して実施した。それらの結果を依頼研究班員にフィードバックし、それぞれの免疫不全症の診断基準の設定のための基盤情報の蓄積に貢献した。

A．研究目的

多様な臨床的な症状を呈する原発性免疫不全症の確定診断には、遺伝子検査が必須である。今回、種々の原発性免疫不全症の診断基準を確定する事を最終的な目的として、各症例ごとの原発性免疫不全症の原因となることが分かっている既知遺伝子の遺伝子解析依頼を本研究班全体から受け入れ、その結果をフィードバックすることにより、確定診断の実現に資する情報を提供することを目的とする。

B．研究方法

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。解析結果は本研究班分担研究者に報告し、その評価は各分担者が行う形で進めた。ABI3130/3730 キャピラリーシーケンサー (Life Technologies, Applied Biosystems®) での解析を基本とするが、本年度からはイルミナ MiSeq による各免疫不全疾患毎のパネル診断に大きく解析方法をシフトした。PCR に依拠したアンプリコンシーケンシングを基本として解析を進めた。

(倫理面への配慮)

本研究での解析検体は、それぞれの研究分担者施設において同意書へのサインなどをいただいており、本研究分担者には匿名化された検体 ID のみが通知される。この遺伝子解析に関しては、すべての関係する機関でヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則った研究であることを倫理審査委員会で確認・承認を受けた上で実施した。

C．研究結果

今年度は12月末の時点までに本研究班の分担研究者から520症例の解析依頼を受け、解析した遺伝子数は3000を越えた。このペースは昨年度の解析症例数の約2倍(年度単位として)となっており、本研究班において活発に確定診断に向けた取組みがなされている事が見受けられた。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ていた。表1に、今年度12月までの解析遺伝子とそれぞれの解析症例数のリストを示す。現時点では9種類の疾患パネルを解析依頼者の希望に応じて準備し、それらを運用した。

表1. 2015年4月から12月までの遺伝子解析依頼状況

遺伝子名	解析依頼 回数	遺伝子名	解析依頼 回数	遺伝子名	解析依頼 回数	遺伝子名	解析依頼 回数
ACP5	3	FAS	4	KRAS	3	PTPRC	3
ADA	3	FASLG	4	LCK	3	RAB27A	1
ADAR	3	FLG	1	LIG4	5	RAG1	4
AIRE	1	FLT3	1	LPIN2	4	RAG2	4
AK2	3	FOXN1	4	LRBA	7	RMRP	3
ATM	3	FOXP3	2	MAGT1	2	RNASEH2A	3
ATR	3	GATA2	4	MCM4	1	RNASEH2B	3
BLM	1	GFI1	4	MEFV	135	RNASEH2C	3
BTK	6	HAX1	5	MRE11A	1	RORC	1
BTNL2	1	HMOX1	120	MS4A1	6	SAMHD1	3
C2	1	ICOS	6	MVK	125	SH2D1A	30
C3	1	IFIH1	4	MYD88	3	SLURP1	1
C9	1	IFNGR1	6	NBN	1	STAT1	11
CARD11	1	IFNGR2	6	NCF1	3	STAT2	1
CARD9	1	IKBKG	12	NCF2	2	STAT3	18
CASP10	5	IKZF1	1	NFKB1	4	STAT5A	3
CASP8	3	IL10	2	NFKB2	6	STAT5B	2
CD19	6	IL10RA	2	NFKBIA	4	STX11	25
CD247	3	IL10RB	2	NHEJ1	3	STXB2P2	26
CD27	5	IL12B	6	NIPAL4	1	TBK1	1
CD3D	3	IL12RB1	6	NLR4	123	TBX1	1
CD3E	3	IL17F	2	NLRP12	124	TCF3	1
CD3G	3	IL17RA	2	NLRP3	129	TMEM173	2
CD40LG	4	IL17RC	1	NOD2	126	TNFRSF13B	6
CD81	6	IL1RN	120	NRAS	1	TNFRSF13C	6
CD8A	3	IL2RA	1	PGM3	1	TNFRSF1A	127
CECR1	10	IL2RB	1	PIK3CD	7	TRAF3IP2	2
CORO1A	3	IL2RG	18	PIK3R1	3	TREX1	3
CR2	6	IL7R	4	PLCG2	127	TRNT1	1
CTLA4	8	IRAK4	3	PNP	3	TYK2	11
CYBB	9	IRF8	9	PRF1	29	UNC13D	26
DCLRE1C	3	ISG15	7	PRKDC	3	WAS	18
DOCK8	10	ITK	24	PSMB8	123	WIPF1	8
ELANE	7	JAK3	10	PSTPIP1	122	XIAP	31
						ZAP70	3

D . 考察

比較的症状から原因遺伝子が明確に同定できる疾患と、遺伝的な素因を確定診断するのが困難な疾患が明確化してきた。遺伝的検査は現在の診断基準でも確定診断に至る必須の情報となっており、これらの解析情報の蓄積は重要である。その解析処理量も近年著しい向上を見せているので、今後より多くの候補既知遺伝子が網羅的な遺伝子解析によって同定されることにより、更に高効率に確定診断が実現できると期待できる。本研究では探索的な新規原因遺伝子探索は行わなかったが、そうした探索研究も医科学研究として活発に進められており、臨床的にその研究成果が活かされるのは間違いないと考えられる。

E . 結論

継続的な遺伝子解析を研究班内で実施する事により、たくさんの症例における遺伝子型と疾患表現型の関連データを蓄積できた。このデータを活用する事により、必ずしも疾患症状からだけでは原因の確定に至れない症例に対しても、遺伝学的な検査によってより高精度・高効率に確定診断できる可能性が示唆された。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Saida S, Umeda K, Yasumi T, Matsumoto A, Kato I, Hiramatsu H, Ohara O, Heike T, Adachi S. Successful reduced-intensity stem cell transplantation for GATA2 deficiency before progression of advanced MDS. *Pediatr Transplant*. 2016 Jan 8. [Epub ahead of print]
- 2) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Sakata S, Ueno Y, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M. A Patient with CTLA-4 Haploinsufficiency Presenting Gastric Cancer. *J Clin Immunol*. 2016 Jan;36(1):28-32.

- 3) Hara Y, Kobayashi N, Maruyama Y, Motobayashi M, Shigemura T, Ohara O, Agematsu K, Koike K. Analysis of Mutations in the IL2RG Gene in 2 Asian Infants with X-linked Severe Combined Immunodeficiency. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2015;25(4):313-5.
- 4) Yasutomi M, Yoshioka K, Mibayashi A, Tanizawa A, Imai K, Ohara O, Ohshima Y. Successful Myeloablative Bone Marrow Transplantation in an Infant With Wiskott-Aldrich Syndrome and Bacillus Calmette-Guerin Infection. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Nov;62(11):2052-3.
- 5) Kido J, Mizukami T, Ohara O, Takada H, Yanai M. Idiopathic disseminated bacillus Calmette-Guerin infection in three infants. *Pediatr Int*. 2015 Aug;57(4):750-3.
- 6) Hirata O, Okada S, Tsumura M, Karakawa S, Matsumura I, Kimura Y, Maihara T, Yasunaga S, Takihara Y, Ohara O, Kobayashi M. Mosaicism of an ELANE mutation in an asymptomatic mother in a familial case of cyclic neutropenia. *J Clin Immunol*. 2015 Jul;35(5):512-6.
- 7) 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*. 2015 Apr;35(3):280-8.
- 8) Takimoto T, Takada H, Ishimura M, Kirino M, Hata K, Ohara O, Morio T, Hara T. Wiskott-Aldrich syndrome in a girl caused by heterozygous WASP mutation and extremely skewed X-chromosome inactivation: a novel association with maternal uniparental isodisomy 6. *Neonatology*. 2015;107(3):185-90.

2 . 学会発表

- 1) 園田 素史、石村 匡崇、松岡 若利、山下 文也、江口 克秀、高田 英俊、小田 紘嗣、小原 収、重症 RSV 肺炎を契機に診断された色素失調症を伴う外胚葉形成不全免疫症の男児、第 9 回日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23

日 東京

- 2) 戸澤 雄介、山田 雅文、Abdrabou Shima、植木 将弘、竹崎 俊一郎、小林 一郎、有賀 正、小田 紘嗣、小原 収、alopecia を伴う進行性 B 細胞欠損を呈した NFκB2 ヘテロ変異例、第 9 回 日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23 日 東京
- 3) 早川 誠一、岡田 賢、土居 岳彦、小林 正夫、星野 顕宏、高木 正稔、今井 耕輔、朴 今花、金兼 弘和、山下 基、岡野 翼、森尾 友宏、村松 秀城、奥野 友介、小島 勢二、鹿間 芳明、加藤 環、小田 紘嗣、小原 収、林 泰秀、田中 洋子、宮野 悟、白石 友一、千葉 健一、宮野 悟、吉田 健一、上野 浩生、小川 誠司、CTLA-4 ハブロ不全による原発性免疫不全症の 9 例、第 9 回 日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23 日 東京
- 4) 關中 佳奈子、加藤 環、關中 悠仁、野々山 恵章、今井 耕輔、高島 健浩、大西 秀典、加藤 善一郎、岡本 典子、小原 収、軽度 T 細胞機能不全と NK 細胞数減少を呈し、エクソーム解析にて IL2RG 新規変異を同定した兄弟例、第 9 回 日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23 日 東京

G 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし

雑誌（英文）

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
Takada H, Ishimura M, Takimoto T, Kohagura T, Yoshikawa H, Imaizumi M, Shichijyou K, Shimabukuro Y, Kise T, Hyakuna N, Ohara Osamu, Nonoyama S, Hara T.	Invasive bacterial infection in patients with interleukin-1 receptor-associated kinase 4 deficiency.	Medicine (Baltimore).	95(4)	e2437.	2016
Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Sakata S, Ueno Y, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M.	A patient with CTLA-4 haploinsufficiency presenting gastric cancer.	J Clin Immunol	36(1)	28-32.	2016
Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Yamamoto T, Kobayashi M.	Late-onset epileptic spasms in a patient with 22q13.3 deletion syndrome.	Brain Dev.	38(1)	109-12	2016
Obayashi N, Arai K, Nakano N, Mizukami T, Kawai T, Yamamoto S, Shimizu H, Nunoi H, Shimizu T, Tang J, Onodera M.	Leopard Skin-like Colonic Mucosa: A Novel Endoscopic Finding of Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis.	J Pediatr Gastroenterol Nutr.	62(1)	56-9.	2016
Sasahara Y.	The WASP-WIP complex in the molecular pathogenesis of Wiskott-Aldrich syndrome.	Pediatr. Int,	58(1)	4-7.	2016
Bousfiha A, Jeddane L, Al-Herz W, Ailal F, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Franco JL, Gaspar HB, Holland SM, Klein C, Nonoyama S, Ochs HD, Oksenhendler E, Picard C, Puck JM, Sullivan KE, Tang ML.	The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies.	J Clin Immunol.	35(8)	727-738.	2015
Cantaert T, Schickel JN, Nonoyama S, Durandy A, Meffre E.	Activation-Induced Cytidine Deaminase Expression in Human B Cell Precursors Is Essential for Central B Cell Tolerance.	Immunity.		in press.	2015
Oshima K, Imai K, Albert M.H, Bittner T.C, Strauss G, Filipovich A.H, Morio T, Kapoor N, Dalal J, Schultz K.R, Casper J.T, Notarangelo L.D, Ochs H.D, Nonoyama S.	Hematopoietic Stem Cell Transplantation for X-Linked Thrombocytopenia With Mutations in the WAS gene.	J Clin Immunol.	35	15-21.	2015
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 L.D, Imai K, Nonoyama S.	RAG1 deficiency may present clinically as selective IgA deficiency.	J Clin Immunol.	35(3)	280-288.	2015

Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Sato H, Tomizawa D, Kajiwarra M, Nagasawa M, Morio T, Nonoyama S.	Clinical features and hematopoietic stem cell transplantations for CD40 ligand deficiency in Japan.	J Allergy Clin Immunol.	136(4)	1018-1024.	2015
Tastuzawa Y, Sekikawa K, Suda T, Matsumoto H, Otabe H, Nonoyama S, Yoshino A.	An interictal schizophrenia-like psychosis in an adult patient with 22q11.2 deletion syndrome.	Epilepsy Behav Case Rep.	3	36-38.	2015
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.	J Clin Immunol.	35(7)	610-614.	2015
Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, Holland SM, Klein C, Nonoyama S, Ochs HD, Oksenhandler E, Puck JM, Sullivan KE, Tang ML, Franco JL, Bobby Gaspar H.	Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015.	J Clin Immunol.		DOI 10.1007/s10875-015-0201-1.	2015
Takimoto T, Takada H, Ishimura M, Kirino M, Hata K, Ohara O, Morio T, Hara T.	Wiskott-Aldrich syndrome in a girl caused by heterozygous WASP mutation and extremely skewed X-chromosome inactivation: a novel association with maternal uniparental isodisomy 6.	Neonatology.	107(3)	185-90.	2015
Mitsuiki N, Yang X, Bartol SJ, Grosserichter-Wagener C, Kosaka Y, Takada H, Imai K, Kanegane H, Mizutani 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(3)	305-13.	2015
Kido J, Mizukami T, Ohara O, Takada H, Yanai M.	Idiopathic disseminated bacillus Calmette-Guerin infection in three infants.	Pediatr Int.	57(4)	750-3.	2015
Okura Y, Kobayashi I, Yamada M, Sasaki S, Yamada Y, Kamioka I, Kanai R, Takahashi Y, Ariga T.	Clinical characteristics and genotype-phenotype correlations in C3 deficiency.	J Allergy Clin Immunol.		in press.	2015
Otsu M, Yamada M, Nakajima S, Kida M, Maeyama Y, Hatano N, Toita N, Takezaki S, Okura Y, Kobayashi R, Matsumoto Y, Tatsuzawa O, Tsuchida F, Kato S, Kitagawa M, Mineno J, Hershfield MS, Bali P, Candotti F, Onodera	Outcomes in two Japanese adenosine deaminase-deficiency patients treated by stem cell gene therapy with no cytoreductive conditioning.	J Clin Immunol.	35(4)	384-98.	2015

M, Kawamura N, Sakiyama Y, Ariga T.					
Okura Y, Yamada M, Kuribayashi F, Kobayashi I, Ariga T.	Monocyte/macrophage-specific NADPH oxidase contributes to antimicrobial host defense in X-CGD.	J Clin Immunol.	35(2)	158-67.	2015
Okura Y, Kawamura N, Okano M, Toita N, Takezaki S, Yamada M, Kobayashi I, Ariga T.	Fusarium falciforme infection in a patient with chronic granulomatous disease: Unique long-term course of epidural abscess.	Pediatr Int.	57(1)	e4-6.	2015
Chida N, Kobayashi I, Takezaki S, Ueki M, Yamazaki Y, Garelli S, Scarpa R, Horikawa R, Yamada M, Betterle C, Notarangelo LD, Yawaka Y, Ariga T.	Disease specificity of anti-tryptophan hydroxylase-1 and anti-AIE-75 autoantibodies in APECED and IPEX syndrome.	Clin Immunol.	156(1)	36-42.	2015
Nakazawa Y, Kawai T, Uchiyama T, Goto F, Watanabe N, Maekawa T, Ishiguro A, Okuyama T, Otsu M, Yamada M, Hershfield MS, Ariga T, Onodera M.	Effects of enzyme replacement therapy on immune function in ADA deficiency patient.	Clin Immunol.	161(2)	391-3.	2015
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	35(3)	244-248.	2015
Yasumi T, Hori M, Hiejima E, Shibata H, Izawa K, Oda H, Yoshioka K, Nakagawa K, Kawai T, Nishikomori R, Ohara O, Heike T.	Laboratory parameters identify familial haemophagocytic lymphohistiocytosis from other forms of paediatric haemophagocytosis.	Br J Haematol.	170(4)	532-8.	2015
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 Hoyerall-Hreidarsson syndrome in Japan.	International journal of hematology.	102(5)	544-552.	2015
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,	GATA2 and secondary mutations in familial myelodysplastic syndromes and pediatric myeloid malignancies.	Haematologica.	100(10)	e398-401.	2015

Miyano S, Takahashi Y, Ogawa S, Kojima S.					
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.	35(5)	454-458.	2015
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.		in press.	2015
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.	2015
Shimizu M, Nakagishi Y, Inoue N, Mizuta M, Ko G, Saikawa Y, Kubota T, Yamasaki Y, Takei S, Yachie A.	Interleukin-18 for predicting the development of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis.	Clin Immunol.	160(2)	277-81.	2015
Sakakibara Y, Wada T, Muraoka M, Matsuda Y, Toma T, Yachie A.	Basophil activation by mosquito extracts in patients with hypersensitivity to mosquito bites.	Cancer Sci.	106(8)	965-71.	2015
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.	195(1)	80-6.	2015
Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, Okuno Y, Sakaguchi H, Nishio N, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, Hama A, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Kobayashi M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S.	Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia.	Haematologica	100(12)	1546-52.	2015
Kobayashi M.	Neutrophil disorders: diagnosis and hematopoietic stem cell transplantation.	Rinsho Ketsueki	56(10)	2230-9.	2015

Yoshioka A, Ishii E, Ueno T, Usami I, Kobayashi M, Kobayashi R, Sotomatsu M, Shirahata A, Suzuki T, Taki M, Ishida Y, Matsushita T, Shima M, Nogami K, Sakai M, Kigasawa H, Fukutake K.	The International Immune Tolerance Induction Study and its follow-up study on Japanese hemophilia A patients with inhibitors.	Int Hematol J	101(4)	362-8.	2015
Nishikawa S, Toshima T, Kobayashi M.	Perceived parenting mediates serotonin transporter gene (5-HTTLPR) and neural system function during facial recognition: A pilot study.	PLoS One.	10(9)	e0134685.	2015
Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Ichimura T, Kaneyasu H, Shimomura M, Wakabayashi-Takahara M, Nakamura K, Kobayashi M, Ohga S.	Remission of autoimmune neutropenia after development of Kawasaki disease.	Pediatr Int.	57(5)	1012-4.	2015
Ma CS, Wong N, Rao G, Avery DT, Torpy J, Hambridge T, Bustamante J, Okada S, Stoddard JL, Deenick EK, Pelham SJ, Payne K, Boisson-Dupuis S, Puel A, Kobayashi M, Arkwright PD, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Minegishi Y, Mahdavian SA, Mansouri D, Bousfiha A, Blincoe AK, French MA, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Smart JM, Fulcher DA, Cook MC, Phan TG, Stepensky P, Boztug K, Kansu A, İkinçioğullari A, Baumann U, Beier R, Roscioli T, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Tangye SG.	Monogenic mutations differentially affect the quantity and quality of T follicular helper cells in patients with human primary immunodeficiencies.	J Allergy Clin Immunol.	136(4)	993-1006.	2015
Hirata O, Okada S, Tsumura M, Karakawa S, Matsumura I, Kimura Y, Maihara T, Yasunaga S, Takihara Y, Ohara O, Kobayashi M.	Mosaicism of an ELANE mutation in an asymptomatic mother in a familial case of cyclic neutropenia.	J Clin Immunol.	35(5)	512-6.	2015
Okada S, Markle JG, Deenick EK, Mele F, Averbuch D, Lagos M, Alzahrani M, Al-Muhsen S, Halwani R, Ma CS, Wong N, Soudais C, Henderson LA, Marzouqa H, Shamma J, Gonzalez M, Martinez-Barricarte R,	IMMUNODEFICIENCIES. Impairment of immunity to Candida and Mycobacterium in humans with bi-allelic RORC mutations.	Science.	349 (6248)	606-613.	2015

Okada C, Avery DT, Latorre D, Deswarte C, Jabot-Hanin F, Torrado E, Fountain J, Belkadi A, Itan Y, Boisson B, Migaud M, Arlehamn CS, Sette A, Breton S, McCluskey J, Rossjohn J, de Villartay JP, Moshous D, Hambleton S, Latour S, Arkwright PD, Picard C, Lantz O, Engelhard D, Kobayashi M, Abel L, Cooper AM, Notarangelo LD, Boisson-Dupuis S, Puel A, Sallusto F, Bustamante J, Tangye SG, Casanova JL.					
Wilson RP, Ives ML, Rao G, Lau A, Payne K, Kobayashi M, Arkwright PD, Peake J, Wong M, Adelstein S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Picard C, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Gray P, Stepensky P, Warnatz K, Freeman AF, Rossjohn J, McCluskey J, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Ma CS, Tangye SG, Deenick EK.	STAT3 is a critical cell-intrinsic regulator of human unconventional T cell numbers and function.	J Exp Med.	212(6)	855-64	2015
Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Kobayashi M.	Increased interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein levels in pediatric epilepsy patients with frequent, refractory generalized motor seizures.	Seizure.	25	136-40	2015
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.	Exon skipping causes atypical phenotypes associated with a loss-of-function mutation in FLNA by restoring its protein function.	Eur J Hum Genet.		doi: 10.1038/ejhg.2015.119. [Epub ahead of print]	2015
Hiejima E, Kawai T, Nakase H, Tsuruyama T, Morimoto T, Yasumi T, Taga T, Kanegane H, Hori M, Ohmori K, Higuchi T, Matsuura M, Yoshino T, Ikeuchi H, Kawada K, Sakai Y, Kitazume MT, Hisamatsu T, Chiba T, Nishikomori R, Heike T.	Reduced Numbers and Proapoptotic Features of Mucosal-associated Invariant T Cells as a Characteristic Finding in Patients with Inflammatory Bowel Disease.	Inflamm Bowel Dis.	21(7)	1529-40.	2015
Imamura H, Konomoto T, Tanaka E, Hisano S, Yoshida Y, Fujimura Y, Miyata T, Nunoi H.	Familial C3 glomerulonephritis associated with mutations in the gene for complement factor B.	Nephrol Dial Transplant.	30(5)	862-4.	2015

Hiroshi H, et al.	Autoimmunity including intestinal Behçet's disease bearing the KRAS mutation in lymphocytes.	Pediatrics.		in press.	2015
Sakashita K, Kato I, Daifu T, Saida S, Hiramatsu H, Nishinaka Y, Ebihara Y, Ma F, Matsuda K, Saito S, Hirabayashi K, Kurata T, Uyen LT, Nakazawa Y, Tsuji K, Heike T, Nakahata T, Koike K.	In vitro expansion of CD34+CD38-cells under stimulation with hematopoietic growth factors on AGM-S3 cells in juvenile myelomonocytic leukemia.	Leukemia.	29(3)	606-14	2015
Yokoyama K, Ikeya M, Umeda K, Oda H, Nodomi S, Nasu A, Matsumoto Y, Izawa K, Horigume K, Kusaka T, Tanaka T, Saito MK, Yasumi T, Nishikomori R, Ohara O, Nakayama N, Nakahata T, Heike T, Toguchida J.	Enhanced chondrogenesis of induced pluripotent stem cells from patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease occurs via the caspase 1-independent cAMP/protein kinase.	Arthritis and Rheumatism	67(1)	302-34	2015
Suzuki N, Niwa A, Yabe M, Hira A, Okada C, Amano N, Watanabe A, Watanabe K, Heike T, Takata M, Nakahata T, Saito M.	Pluripotent cell models of Fanconi anemia identify the early pathological defect in human hemoangiogenic progenitors.	Stem Cells Translational Medicine.	4(4)	333-8	2015
Kreins AY, Ciancanelli MJ, Okada S, Kong XF, Ramírez-Alejo N, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Mahdavian SA, Ailal F, Bousfiha A, Mansouri D, Nievas E, Ma CS, Rao G, Bernasconi A, Sun Kuehn H, Niemela J, Stoddard J, Deveau P, Cobat A, El Azbaoui S, Sabri A, Lim CK, Sundin M, Avery DT, Halwani R, Grant AV, Boisson B, Bogunovic D, Itan Y, Moncada-Velez M, Martinez-Barricarte R, Migaud M, Deswarte C, Alsina L, Kotlarz D, Klein C, Muller-Fleckenstein I, Fleckenstein B, Cormier-Daire V, Rose-John S, Picard C, Hammarstrom L, Puel A, Al-Muhsen S, Abel L, Chaussabel D, Rosenzweig SD, Minegishi Y, Tangye SG, Bustamante J, Casanova JL, Boisson-Dupuis S.	Human TYK2 deficiency: Mucobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome.	J Exp Med.	212 (10)	1641-1662.	2015
Kawai T, Arai K, Harayama S, Nakazawa Y, Goto F, Maekawa T, Tamura E, Uchiyama T, Onodera M.	Severe and Rapid Progression in Very Early-Onset Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis.	J Clin Immunol.	35(6)	583-588.	2015

Takeuchi Y, Takeuchi E, Ishida T et al.	Curative haploidentical BMT in a murine model of X-linked chronic granulomatous disease.	Int Hematol.	102(1)	111-120.	2015
Nakayama T, Sato Y, Uematsu M, Takagi M, Hasegawa S, Kumada S, Kikuchi A, Hino-Hukuyo N, Sasahara Y, Haginoya K, Kure S.	Myoclonic axial jerks for diagnosing atypical evolution of ataxia telangiectasia.	Brain Dev.	37(3)	362-365.	2015
Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kikuchi A, Goi K, Nakane T, Ikeno M, Noguchi Y, Uike N, Miyajima Y, Matsubara K, Koh K, Sugita K, Imaizumi M, Kure S.	Analyses of genetic and clinical parameters for screening patients with inherited thrombocytopenia with small or normal-sized platelets.	Pediatr. Blood Cancer	62(12)	2082-2088.	2015
Yasutomi M, Yoshioka K, Mibayashi A, Tanizawa A, Imai K, Ohara O, Ohshima Y.	Successful Myeloablative Bone Marrow Transplantation in an Infant With Wiskott-Aldrich Syndrome and Bacillus Calmette-Guerin Infection.	Pediatr Blood Cancer.	62(11)	2052-3.	2015
Shikano H, Ohnishi H, Fukutomi H, Ito K, Morimoto M, Teramoto T, Aoki M, Nishihori T, Akeda Y, Oishi K, Fukao T.	Mondini dysplasia with recurrent bacterial meningitis caused by three different pathogens.	Pediatr Int.	57(6)	1192-5.	2015
Takahashi T, Fujisawa T, Kimura M, Ohnishi H, Seishima M.	Familial Mediterranean fever variant with repeated atypical skin eruptions.	J Dermatol.	42(9)	903-5.	2015

雑誌（和文）

発表者名	論文タイトル名	発表雑誌	巻号	ページ	出版年
笹原洋二.	総説:ITP と鑑別が必要な小型・正常大の血小板を有する遺伝性血小板減少症.	日本小児血液・がん学会雑誌	52(3)	311-316	2015
八角高裕、柴田洋史、下寺佐栄子、平家俊男.	HLH 病態の多様性と治療戦略の展望.	臨床血液	56	2248-57.	2015