

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008 ～ 2010

課題番号：20591250

研究課題名（和文） 抗体産生不全症における新たな病態の解明と臨床像との関連

研究課題名（英文） Pathogenesis and clinical course of primary antibody deficiency

研究代表者

金子 英雄 (KANEKO HIDEO)

岐阜大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：80293554

研究成果の概要（和文）：

高 IgM 症候群の、II 型は常染色体劣性の遺伝形式をとり、activation-induced cytidine deaminase (AID) 遺伝子の異常による。我々は、高 IgM 症候群の II 型について、AID の C-末の R190X 変異が、dominant negative 変異として作用するため、常染色体優性の遺伝形式をとることを報告してきた。今回、R190X 変異を有する母と二人の子供について、検討をおこなった。同一の遺伝子変異を有するにも関わらず、母は高 IgM のパターンを示したが、子供の免疫グロブリン値は正常範囲内であった。このことは、R190X 変異のみでは高 IgM 免疫不全症のパターンをとらないことを示唆している。高 IgM 免疫不全症のパターンになるには AID 以外の他の遺伝的要因の関与または、環境要因の関与が考えられる。また、一旦、IgG にクラススイッチした記憶 B 細胞の維持には、AID の働きが関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The pattern of serum Ig level were different between mother and daughter with same AID mutation (R190X). The immune phenotype of HIGM2 (R190X) might be affected by the environmental factors or the other genetic factors. In HIGM2 (R190X), specific antibody of IgM class was expressed for long time by IgM memory B cells, in which have done somatic hypermutation. In HIGM2 (R190X), some B cell could switched IgM to IgG. This switched B cell might not survive for long time and IgG antibody might become disappeared.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：内科系臨床医学・小児科学

科研費の分科・細目：7212

キーワード：高 IgM 症候群、activation induced cytidine deaminase, R190X 変異, Dominant negative mutation、体細胞突然変異

1. 研究開始当初の背景

高 IgM 症候群は、いくつかの病態からなる。そのうち、伴性劣性の遺伝形式を有する CD40L

遺伝子の異常による I 型と常染色体劣性の遺伝形式をとる activation-induced cytidine

deaminase (AID) 遺伝子の異常によるII型が主なものである。我々は、高IgM症候群のII型について、AIDのC-末のR190X変異が、dominant negative変異として作用するため、常染色体優性の遺伝形式をとることを報告してきた。しかし、その病態に関しては不明な点も多く残されている。

2. 研究の目的

今回、AIDのC-末にR190X変異を有する母と二人の子供について、検討をおこなった。症例の解析を通じて、AIDのC-末の変異が、免疫グロブリンの産生、クラススイッチ、体細胞突然変異、記憶B細胞の維持において、どのような役割を有しているか検討することを目的とした。

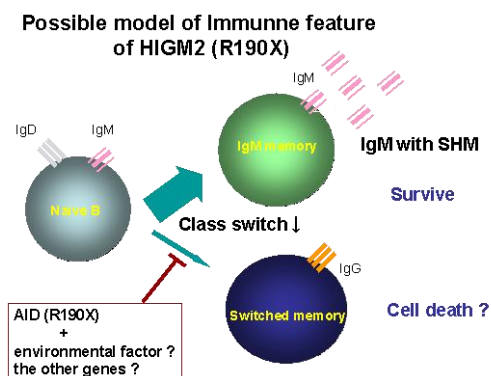
3. 研究の方法

対象は以前報告した、AIDにR190Xの変異を有する母とその娘二人を対象とした。患者血清を用いて免疫グロブリンの経時的な変化を観察した。VH23のプライマーとC μ のプライマーを用いてcDNAより、PCR法で増幅した断片をベクターに組み込んで、塩基配列をgerm-lineと比較して、体細胞突然変異の割合を比較した。フローサイトメーターにより、CD19、CD27、IgDのスリーカラー染色によりCD19陽性CD27陽性IgD陽性をnon-class switch記憶B細胞、CD19陽性CD27陽性IgD陰性をclass switch記憶B細胞とした。

4. 研究成果

母の免疫グロブリン値はIgMが高値でありIgG、IgA、IgEは低値を示し、典型的な高IgM免疫不全症のパターンを示した。麻疹罹患時に、抗麻疹IgM抗体が上昇の後、抗麻疹IgG抗体が陽性になった。しかし、その後IgG抗体は消失し、IgM抗体は持続的に陽性を示すという特異なパターンをとっている。しかし、同一の遺伝子変異を有するにも関わらず、二人の子供の免疫グロブリン値は、正常範囲内であった。麻疹のワクチン接種後、抗麻疹IgG抗体は持続的に陽性を示しており、正常な反応を示している。IgM重鎖遺伝子の体細胞突然変異の割合は、母子ともに、やや健常人より低下傾向を示したが、保たれていた。また、母娘ともにCD19陽性CD27陽性IgD陰性のclass switch記憶B細胞は低下していたが、CD19陽性CD27陽性IgD陽性のnon-class switch記憶B細胞は、ほぼ健常人と同様に保たれていた。以上の結果は、R190X変異のみでは高IgM免疫不全症のパターンをとらないことを示唆している。高IgM免疫不全症のパターンになるにはAID以外の他の遺伝的要因の関与または、環境要因の関与が考えられる。また、一旦、IgGにクラススイッチした記憶B細胞の維持には、AIDの働きが関与してい

ることが示唆された(図)。以上より、本症例の検討を通してAIDの新たな機能が示唆された。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 22 件)

- 1) Kaneko H, Teramoto T, Kondo M, Morita H, Ohnishi H, Orii K, Matsui E, Kondo N. Efficacy of the slow dose-up method for specific oral tolerance induction in children with cow's milk allergy: Comparison with reported protocols. (査読有) *J investing allergol clin immunol* 2010 20:538-9.
- 2) Matsui E, Shinoda S, Fukutomi O, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Relationship between the benefits of suplatast tosilate, a Th2 cytokine inhibitor, and gene polymorphisms in children with bronchial asthma. (査読有) *Exp Ther Med* 2010 1: 977-982.
- 3) Kondo N, Matsui E, Nishimura A, Kaneko H. Pharmacogenetics of asthma in children. (査読有) *Allergy Asthma Immunol Res.* 2010 2:14-9.
- 4) Ozeki M, Funato M, Teramoto T, Ohe N, Asano T, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Reversible cerebrospinal fluid edema and porencephalic cyst, a rare complication of ventricular catheter. (査読有) *J Clin Neurosci.* 2010 17:658-61.
- 5) Ohnishi H, Kato Z, Teramoto T, Funato M, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Diagnostic approach for the autoinflammatory syndromes based on the molecular mechanism of innate immunity. (査読有) *Arerugi.* 2009 58:1502-12. Review. Japanese.
- 6) Ozeki M, Kunishima S, Kasahara K, Funato

- M, Teramoto T, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. A family having type 2B von Willebrand disease with an R1306W mutation: Severe thrombocytopenia leads to the normalization of high molecular weight multimers. (査読有) **Thromb Res**. 2010 125:e17-22.
- 7) Ozeki M, Kato Z, Sasai H, Kubota K, Funato M, Orii K, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Congenital inner ear malformations without sensorineural hearing loss in children. (査読有) **Int J Pediatr Otorhinolaryngol**. 2009 Aug 18. [Epub ahead of print]
- 8) Kato Z, Okuda M, Okumura Y, Arai T, Teramoto T, Nishimura M, Kaneko H, Kondo N. Oral administration of the thyrotropin-releasing hormone (TRH) analogue, taltireline hydrate, in spinal muscular atrophy. (査読有) **J Child Neurol**. 2009 24:1010-2
- 9) Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Ozeki M, Orii K, Teramoto T, Kaneko H, Kondo N. Translocation (1;10)(p34;p15) in infant acute myeloid leukemia with extramedullary infiltration in multiple sites. (査読有) **Cancer Genet Cytogenet**. 2009 192:86-9.
- 10) Kaneko H, Suzuki H, Kondo N. **IgA subclass and IgA deficiency**. (査読有) **Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi**. 2009 32:142-8. Review. Japanese.
- 11) Funato M, Kato H, Sasai H, Kubota K, Ozeki M, Kato Z, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Diffuse large B-cell lymphoma presenting with osteolytic lesions in the bilateral femur. (査読有) **Eur J Haematol**. 2009 83:502.
- 12) Tokumi T, Ohnishi H, Kaneko H, Kato Z, Kondo N. Primary immunodeficiency diseases caused by defects in innate immunity: update. (査読有) **Arerugi**. 2009 Jan;58(1):19-28. Review. Japanese.
- 13) Suzuki H, Kaneko H, Fukao T, Jin R, Kawamoto N, Asano T, Matsui E, Kasahara K, Kondo N. Various expression patterns of alpha1 and alpha2 genes in IgA deficiency. (査読有) **Allergol Int**. 2009 58:111-7.
- 14) Morimoto M, Matsui E, Kawamoto N, Sakurai S, Kaneko H, Fukao T, Iwasa S, Shiraki M, Kasahara K, Kondo N. Age-related changes of transforming growth factor beta1 in Japanese children. (査読有) **Allergol Int**. 2009 58:97-102.
- 15) Arai T, Kaneko H, Ohnishi H, Matsui E, Fukao T, Kawamoto N, Kasahara K, Kondo N. Hypothermia augments NF-kappaB activity and the production of IL-12 and IFN-gamma. (査読有) **Allergol Int**. 2008 57:331-8.
- 16) Funato M, Kaneko H, Ozeki M, Kanda K, Fukao T, Kondo N. Anaphylactoid transfusion reactions associated with a positively charged white-cell reduction filter: a case report. (査読有) **Transfus Apher Sci**. 2008 38:199-201.
- 17) Kondo M, Fukao T, Omoya K, Kawamoto N, Aoki M, Teramoto T, Kaneko H, Kondo N. Protein-losing enteropathy associated with egg allergy in a 5-month-old boy. (査読有) **J Investig Allergol Clin Immunol**. 2008 18:63-6.
- 18) Kondo M, Kaneko H, Fukao T, Suzuki K, Sakaguchi H, Shinoda S, Kato Z, Matsui E, Teramoto T, Nakano T, Kondo N. The response of bovine beta-lactoglobulin-specific T-cell clones to single amino acid substitution of T-cell core epitope. (査読有) **Pediatr Allergy Immunol**. 2008 19:592-8.
- 19) Jin R, Kaneko H, Suzuki H, Arai T, Teramoto T, Fukao T, Kondo N. Age-related changes in BAFF and APRIL profiles and upregulation of BAFF and APRIL expression in patients with primary antibody deficiency. (査読有) **Int J Mol Med**. 2008 21:233-8.
- 20) Bai C, Matsui E, Ohnishi H, Kimata K, Kasahara K, Kaneko H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. A novel polymorphism, E254K, in the 5-lipoxygenase gene associated with bronchial asthma. (査読有) **Int J Mol Med**. 2008 21:139-44.
- 21) Suzuki H, Kaneko H, Rong J, Kawamoto N, Asano T, Matsui E, Kasahara K, Fukao T, Kondo N. Induction of alpha1 and alpha2 gene expression in selective immunoglobulin A deficiency. (査読有) **Molecular Medicine Reports** 2008 1:395-399.
- 22) Matsukuma E, Kaneko H (他 6 名 7 番 目). Acute mumps cerebellitis with abnormal findings in MRI

diffusion-weighted images. (査読有)
Eur J Pediatr. 2008 167: 829-30.

[学会発表] (計 4 件)

1. 金子英雄、深尾敏幸、谷内江昭宏、清河信敬、滝田順子、内田靖、近藤直実 Bloom 症候群の実態調査と診断指針の策定の試み 第 4 回日本免疫不全症研究会 福岡 2011 年 1 月 22 日
2. Kaneko H, Morita H, Ohnishi H, Kato Z, Matsui E, Kondo N. Expression and purification of recombinant soybean protein P34 and its clinical application. The 8th Asia Pacific Congress of Allergy, Asthma and Clinical Immunology November Singapore, 2010 年 11 月 8 日
3. Kubota K, Ohnishi H, Teramoto T, Matsui E, Kaneko H, Kondo N. Case reports of atypical periodic autoinflammatory syndrome associated with MEFV exon3 and NLRP3 exon5 gene mutations in Japanese children. The 8th Asia Pacific Congress of Allergy, Asthma and Clinical Immunology. November, Singapore, 2010 年 11 月 8 日
4. Kaneko H, Suzuki H, Kondo N. Various expression patterns of alpha1 and alpha2 genes in IgA deficiency. 14th Workshop International Congress of Immunology. August, Kobe, Japan, 2010 年 8 月 25 日.

[図書] (計 1 件)

1. Kondo N, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Teramoto T, Kato Z, Ohnishi H, Nishimura A: Genetics of Pediatric Asthma. In: Pawankar R, Holgate ST, Rossenwasser LJ eds. Allergy Frontiers (volume 1 Allergy Frontiers: Epigenetics, Allergens and Risk Factors), 2009, 189-203.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金子 英雄 (KANEKO HIDEO)
岐阜大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号 : 80293554

(2) 研究分担者 なし
()

研究者番号 :

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号 :

