

autoimmune lymphoproliferative 症候群

autoimmune lymphoproliferative syndrome

かねがねひろかず
金兼弘和

みやわきとしお
宮脇利男

富山大学大学院医学薬学研究部小児科学

■ 定義・概念

Autoimmune lymphoproliferative 症候群 (ALPS) は、リンパ球の遺伝的なアポトーシス異常により、リンパ増殖症と自己免疫疾患を特徴とする先天性免疫不全症のひとつである¹⁾。健常人ではほとんど存在しない T 細胞レセプター α / β 鎖陽性、かつ CD4・CD8 陰性の、いわゆるダブル・ネガティブ T (DNT) 細胞が末梢血で増加するという特徴も有する (図)。

■ 病因・病態生理

ALPS と病理学的に類似した *lpr* マウスの原因が *fas* 遺伝子変異と同定されたのを契機に、ALPS の原因遺伝子が *Fas* と同定された²⁾³⁾。Fas/Fas リガンド (FasL) 系は、生体にとって不要となった過剰なリンパ球をアポトーシスによって排除するシステムである。ALPS は Fas のみならず、これらの経路のどこかに異常があってもおこりうる。Fas 変異によるものをタイプ Ia、FasL 異常によるものをタイプ Ib、カスパーゼ 10 変異によるものをタイプ IIa、カスパーゼ 8 変異によるものをタイプ IIb とよび、原因遺伝子が明らかでないものをタイプ III と分類する。さらに、NRAS 変異による ALPS (タイプ IV) が最近同定された。Fas 変異は常染色体優性遺伝であるが、ホモ接合体による Fas 変異例は重症であり、また *Fas* 遺伝子の体細胞変異による ALPS も存在する。

■ 発生頻度

これまで世界中で 200 例以上の ALPS が見つかり、わが国からも、少なくとも 8 家系が報告されている。ALPS タイプ Ia 以外はきわめてまれであり、わが国からの報告例はない。

■ 症状・診断

遷延する脾腫、リンパ節腫脹に加え、さまざまな自己免疫疾患を合併する。中でも、溶血性貧血、血小板減少などの血液学的合併症が多いが、糸球体腎炎、Guillain-Barré 症候群、自己免疫性肝炎、ブドウ膜炎、血管炎などもみられる。ホモ接合体の Fas 変異では、重症胎児水腫が認められる。

末梢血において DNT 細胞の増加 (1% 以上) が認

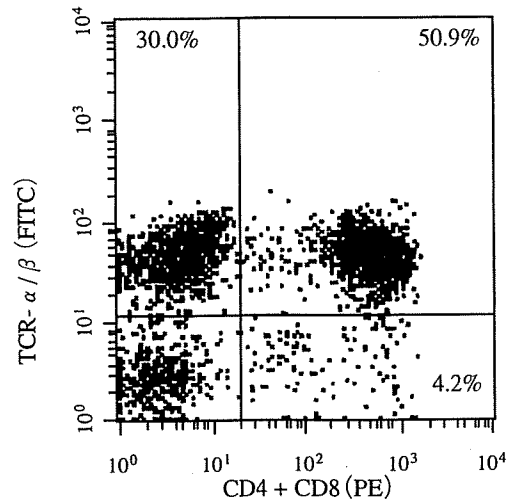


図 ALPS 患者における DNT 細胞
DNT 細胞の増加 (30.0%) を認める (正常対照では 1% 以下)

められ、Fas 刺激に対してリンパ球のアポトーシスが誘導されないことが *in vitro* で証明されれば、ALPS と診断される。最終的には遺伝子変異によって確定診断する。

■ 治療・予後

合併する自己免疫疾患に対するステロイド投与は対症的であるが、一時的な効果が認められる。ホモ接合体では造血幹細胞移植がすすめられる。

生命予後は比較的良好であり、成人に達するにつれて症状が軽減することが多い。しかしタイプ Ia の家系では、悪性リンパ腫などの悪性腫瘍の発生率が高いことに留意する。

■ 文献

- 1) Sneller MC et al.: A novel lymphoproliferative/autoimmune syndrome resembling murine *lpr/gld* disease. *J Clin Invest* 90 : 332-342, 1992
- 2) Fisher GH et al.: Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 81 : 935-946, 1995
- 3) Rieux-Laucat F et al.: Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. *Science* 268 : 1347-1349, 1995

著者連絡先

〒930-0194 富山市杉谷 2630

富山大学大学院医学薬学研究部小児科学
金兼弘和

無ガンマグロブリン血症

金兼弘和* (かねがねひろかず)

趙 美娜* (ちょうみな)

宮脇利男* (みやわきとしお)

*富山大学医学部小児科

要旨

無ガンマグロブリン血症とはすべてのクラスの血清免疫グロブリン値の低下であり、臨床的には細菌感染に対する易感染性を示す。1次的なものと2次的なものがあるが、本稿では遺伝子異常に基づく1次的なものを取り上げる。代表的疾患はX連鎖無ガンマグロブリン血症であり、その原因遺伝子はB細胞分化にかかわるBTKである。BTK遺伝子以外にもB細胞分化にかかわるさまざまな遺伝子異常によって無ガンマグロブリン血症をきたしうる。本稿ではB細胞分化障害からみた無ガンマグロブリン血症について概説する。

Key words: 無ガンマグロブリン血症, B細胞, X連鎖無ガンマグロブリン血症, 常染色体劣性無ガンマグロブリン血症, 分類不能型免疫不全症

はじめに

無ガンマグロブリン血症は一般的には血清免疫グロブリン値の低下 (IgG<200 mg/dL 以下, IgA<20 mg/dL 以下, IgM<20 mg/dL 以下) と定義づけられ、1次的なものと感染症、悪性腫瘍、免疫抑制薬や抗てんかん薬を含む薬剤投与などによる2次的なものがある。本特集の趣旨に従い、遺伝子異常に基づく1次的な無ガンマグロブリン血症のみを本稿では取り上げる。

無ガンマグロブリン血症は臨床的には肺炎や中耳炎などの細菌感染症を繰り返すことで気づかれ、治療の基本は免疫グロブリン補充療法と抗生剤投与である。代表的疾患はX連鎖無ガンマグロブリン血症 (X-linked agammaglobulinemia: XLA) であり、その原因遺伝子はプロB細胞からプレB細胞の分化に必須な *Bruton's tyrosine kinase (BTK)* である¹⁾²⁾。BTK以外にもB細胞分化障害をきたしうるすべての遺伝子異常が無ガンマグロブリン血症となる。B細胞分化段階のどのレベルでの障害かによって無ガンマグロブリン血症はいくつかに分類することが可能であり、そのように考えるとこの疾患を理解しやすい。

I B細胞分化

B細胞は骨髄において造血幹細胞 (hematopoietic stem cells: HSC) から抗原非依存性にプロB細胞、プレB細胞、未熟B細胞と分化し、末梢血に流出する。末梢血においては抗原依存性にナイーブB細胞からメモリーB細胞へと分化し、最終的には形質細胞となり、免疫グロブリン産生を行う。この分化段階のいずれかに異常があっても最終的には抗体産生不全症となりうる (図1)。

B細胞分化のきわめて初期段階でV(D)J再構成に異常を認めた場合にはB細胞分化がそれ以上進まず、B細胞欠損となりうる。V(D)J再構成の異常は *RAG1*, *RAG2*, *Artemis*, *LIG4*, *Cernunnos*, *DNA-PKcs* の異常によって起こるが、これらの異常はV(D)Jのみならず、T細胞レセプターの再構成の異常もきたしうるため、複合免疫不全症となる。複合免疫不全症については野々山による本特集の前稿を参照していただきたい。

抗体産生不全症の代表的疾患であるXLAはBTK変異によって発症する。BTKはTEC

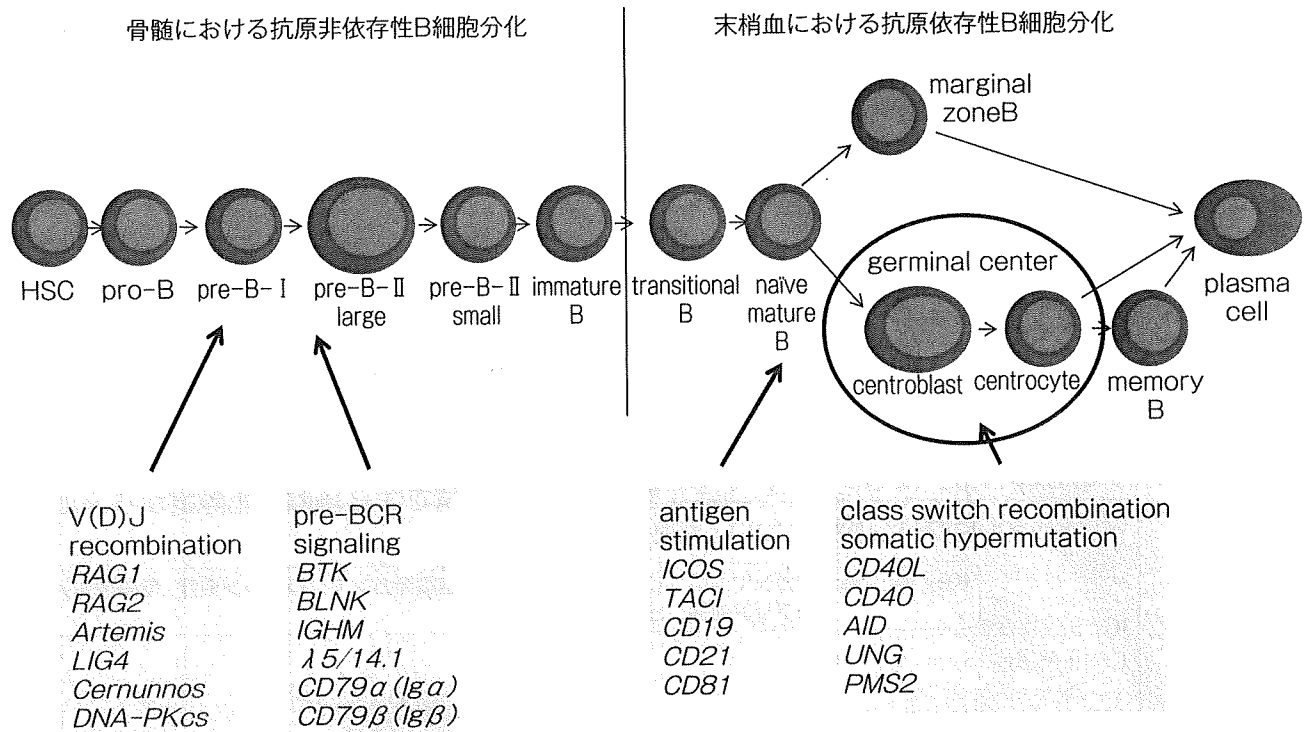


図1 B細胞分化と抗体産生不全症

ファミリーに属する非レセプター型細胞内キナーゼであり、プレB細胞レセプターからのシグナル伝達に重要な働きをしており、BTK欠損によりプロB細胞からプレB細胞への分化障害が生じる。プレB細胞レセプターは μ 重鎖、 $\lambda 5$, VpreB, Ig α , Ig β から構成され、VpreBを除くすべての遺伝子変異による常染色体劣性無ガンマグロブリン血症が報告されている^{3)~9)}。さらにプレB細胞からのシグナルを下流に伝えるアダプター分子としてBLNKが存在し、BLNK変異によっても無ガンマグロブリン血症を生じる¹⁰⁾。

末梢血にB細胞は存在するが、無ガンマグロブリン血症を呈する疾患群として分類不能型免疫不全症 (common variable immunodeficiency: CVID)があるが、CVIDの基本病態はナイーブB細胞からメモリーB細胞への分化障害である。CVIDの原因遺伝子としてICOSが見つかったから¹¹⁾、その原因遺伝子としてTACI, CD19, CD21, CD81などが同定されてきてい

る^{12)~15)}。

また末梢血B細胞はIgMおよびIgDのみを産生するB細胞からすべてのクラスの免疫グロブリンを産生するB細胞へ分化するが、この分化段階に異常があった場合にはいわゆる高IgM症候群 (hyper-IgM syndrome: HIGM)となる。その原因遺伝子としてCD154 (CD40L)のみならず¹⁶⁾¹⁷⁾、CD40, activation-induced cytidine deaminase (AID), uracil-DNA glycosylase (UNG), PMS2が報告されている^{18)~21)}。

IgGサブクラス欠損症やIgA欠損症なども広義には抗体産生不全症に含まれるが、本稿では割愛し、前述の抗体産生不全症の分類と原因遺伝子について表に示す²²⁾。

II B細胞の著明な減少を伴いすべてのクラスの免疫グロブリン低下を伴うもの

1. X連鎖無ガンマグロブリン血症

このカテゴリーに属する代表的疾患はXLA

表 抗体産生不全症

疾患	遺伝子異常
B細胞の著明な減少を伴いすべてのクラスの免疫グロブリン低下を伴うもの	
BTK欠損症 (XLA)	<i>BTK/BTK</i>
μ 重鎖欠損症	<i>IGHM/\mu</i> 重鎖
$\lambda 5$ 欠損症	<i>CD179B/\lambda 5</i>
Ig α 欠損症	<i>CD79A/Igα</i>
Ig β 欠損症	<i>CD79B/Igβ</i>
BLNK欠損症	<i>BLNK/BLNK</i>
免疫不全を伴う胸線腫 (Good症候群)	不明
骨髄異形成症候群	モノソミー7, トリソミー8 先天性角化異常症など
B細胞数は正常から低値をとりIgGおよびIgAの著明な減少を伴うもの	
分類不能型免疫不全症 (CVID)	<i>TNFRSF13B/TACI</i> <i>TNFRSF13C/BAFFR</i> <i>MSH/Msh5</i>
ICOS欠損症	<i>ICOS/ICOS</i>
CD19欠損症	<i>CD19/CD19</i> <i>CD81/CD81</i>
CD21欠損症	<i>CD21/CD21</i>
X連鎖リンパ増殖症候群 (XLP)	<i>SH2D1A/SAP</i> <i>XIAP/XIAP</i>
B細胞数は正常でありIgGおよびIgAは減少するが、IgMは正常または高値であるもの	
CD40L欠損症 (X連鎖高IgM症候群)	<i>TNFSF5/CD154</i> (CD40リガンド)
CD40欠損症	<i>TNFRSF5/CD40</i>
AID欠損症	<i>AICDA/AID</i>
UNG欠損症	<i>UNG/UNG</i>
PMS2欠損症	<i>PMS2/PMS2</i>

(Yong PFK et al, 2008²²⁾より一部改変)

である。XLAは1952年にアメリカの小児科医 Bruton²³⁾によって最初に報告され、先天性免疫不全症の診断と治療の歴史はこの報告から始まったといっても過言ではない。疾患の同定から約40年後の1993年にXLAの原因遺伝子が2つのグループから報告され¹⁾²⁾、*BTK*と命名された。*BTK*はXq22に局在し、19のエクソンからなる37kbの遺伝子であり、細胞内チロシンキナーゼであるTECファミリーに属し、形質細胞を除くすべてのB細胞、骨髄細胞、単球、血小板に発現しているが、T細胞には発現していない。*BTK*はリン酸化蛋白であり、プレB細胞からのシグナル伝達に重要な働きを

し、*BTK*変異によってプロB細胞からプレB細胞への分化障害が生じ、その結果としてB細胞欠損による無ガンマグロブリン血症となる。

臨床症状は母親からの移行抗体の消失する生後4か月過ぎから、肺炎や中耳炎などの細菌感染を繰り返すようになって気づかれ、多くは5歳までに診断されるが、成人になって初めて診断される例もまれではない。また通常ウイルス感染に対しては抵抗性であるが、エンテロウイルスに対しては易感染性を示す。家族歴があれば診断は容易であるが、家族歴を有するものは半数以下である。よって家族歴がなくても易感染性を示す男児で、血清免疫グロブリン低値で、

末梢血 B 細胞欠損を伴う場合には積極的に XLA を疑う。

2. 常染色体劣性無ガンマグロブリン血症

B 細胞欠損を伴う先天性無ガンマグロブリン血症の約 15% では *BTK* 遺伝子変異が同定されず、常染色体劣性無ガンマグロブリン血症と称される。そのうち 20~30% は μ 重鎖欠損症である³⁾⁴⁾。それ以外にもごく数家系ずつであるが、 $\lambda 5$, *Ig α* , *Ig β* , *BLNK* 変異による無ガンマグロブリン血症が報告されている^{5)~10)}。臨床的には XLA とほとんど同じであるが、発症年齢が早く、エンテロウイルス感染を含む重症感染症に罹患しやすいとされている。

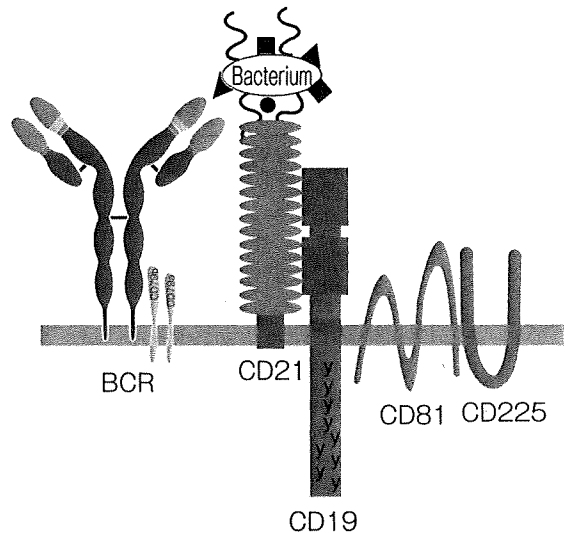


図2 CD19 コンプレックス

III B 細胞数は正常から低値をとり IgG および IgA の著明な減少を伴うもの

1. 分類不能型免疫不全症

XLA と並んで抗体産生不全症の代表的疾患であり、発症に男女差はなく、ほとんどは散发性であるが、一部に IgA 欠損症を含む家族歴を有する。

雑多な原因による症候群と永らく考えられてきたが、2005 年に *ICOS* 欠損による 2 家系の CVID が報告された¹¹⁾。*ICOS* は活性化 T 細胞に発現し、B 細胞の分化にかかわる分子である。これまで報告されている 4 家系は同一の欠失とハプロタイプを有することから、共通祖先に由来すると考えられているが、最近わが国からも 1 家系が同定された。

ICOS 欠損症の報告に喚起されて CVID の原因遺伝子が精力的に検索された。とくに B 細胞の分化にかかわる TNF レセプタースーパーファミリーに注目され、CVID の新たな原因として *TACI* と *BAFF* レセプターが報告された¹²⁾¹³⁾。*TACI* は CVID および IgA 欠損症の 10% 弱に変異を有すると考えているが、CVID の表現型を有しない家族でもヘテロ接合体が見つかっており、その意味づけはいまだに議論が

ある。また *BAFF* レセプターについてもホモ接合体の欠損が学会で報告されただけであり、CVID の原因遺伝子として確実とはいえないかもしれない。

CD19 は B 細胞表面で CD21, CD81, CD225 と複合体を形成し、B 細胞レセプターと結合し、抗原刺激を伝える (図 2)。これまで文献上コロンビア人、トルコ人、日本人の 3 家系が報告されているが¹⁴⁾¹⁵⁾、さらに数家系が報告され、CVID における確立された疾患群として捉えられる。*CD21* および *CD81* 欠損症も報告され、とくに *CD81* 変異では B 細胞表面における CD19 発現が欠損しており、臨床的相同性を示唆するものである。

2. X 連鎖リンパ増殖症候群

X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome: XLP) は EBV ウイルス (EBV) 感染に対する特異的免疫応答の欠陥を有する先天性免疫不全症であり、臨床的表現として致命的伝染性単核症 (60%)、悪性リンパ腫 (30%) のほかに低ガンマグロブリン血症 (30%) もある。多くは EBV 感染症後であるが、一部には EBV 感染症の既往が明らかでない場合もある。原因遺伝子は *SH2D1A* (タイプ 1) だけでなく、*XIAP* (タイプ 2) の 2 種類がある^{24)~26)}。

IV B細胞数は正常でありIgGおよびIgAは減少するが、IgMは正常または高値であるもの

1. X連鎖高IgM症候群

IgGおよびIgAは正常であるが、IgMが正常または高値であるということはクラススイッチの異常を示唆し、X連鎖HIGMの原因遺伝子はT細胞上に存在するCD154 (CD40リガンド)と同定された¹⁶⁾¹⁷⁾。CD154はB細胞上のCD40との相互作用でクラススイッチにかかわっている。X連鎖HIGMはニューモシチス肺炎をはじめとする細胞性免疫異常としての症状を呈し、臨床的には複合免疫不全症と捉えられ、造血幹細胞移植の適応でもある。

2. 常染色体劣性高IgM症候群

HIGMにおける高IgM血症は繰り返す感染症の結果としての検査値であり、病気の本態から考えて「クラススイッチ異常症」とよぶほうがふさわしい。HIGMの原因遺伝子としてクラススイッチにかかわる分子が精力的に調べられ、CD40, AID, UNG, PMS2が同定されている^{18)~21)}。また外胚葉形成不全症の原因遺伝子であるNEMOやataxia telangiectasiaの原因遺伝子であるATMの変異によっても臨床的にHIGMとなることがある^{27)~29)}。

おわりに

無ガンマグロブリン血症は決してXLAやCVIDだけではなく、さまざまな原因遺伝子が同定されている。その病態はB細胞分化障害と捉えると理解しやすく、またシグナル異常症と考えることによって新たな原因遺伝子が同定されるであろう。もし診断に困った症例があれば筆者まで連絡していただければ幸いです。

治療は抗生剤投与と免疫グロブリン定期補充療法である。IgGトラフ値を少なくとも500 mg/dL以上に保つように、3~4週間ごとに

300~500 mg/kgの免疫グロブリンを補充する。原因遺伝子がわかっているものでは理論的には遺伝子治療が可能であり、現在基礎的研究も勢力的に行われているが、その臨床的応用にも期待したい。

文献

- 1) Vetrie D et al : The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinase. *Nature* 1993 ; 361 : 226-233
- 2) Tsukada S et al : Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 1993 ; 72 : 279-290
- 3) Yel L et al : Mutations in the μ heavy-chain gene in patients with agammaglobulinemia. *N Engl J Med* 1996 ; 335 : 1486-1493
- 4) Lopez GE et al : Clinical and molecular analysis of patients with defects in micro heavy chain gene. *J Clin Invest* 2002 ; 110 : 1029-1035
- 5) Minegishi Y et al : Mutations in the human $\lambda 5/14.1$ gene result in B cell deficiency and agammaglobulinemia. *J Exp Med* 1998 ; 187 : 71-77
- 6) Minegishi Y et al : Mutations in $Ig\alpha$ (CD79a) result in a complete block in B-cell development. *J Clin Invest* 1999 ; 104 : 1115-1121
- 7) Wang Y et al : Novel $Ig\alpha$ (CD79a) gene mutation in a Turkish patient with B cell deficiency and agammaglobulinemia. *Am J Med Genet* 2002 ; 108 : 333-336
- 8) Ferrari S et al : Mutations of the $Ig\beta$ gene cause agammaglobulinemia in man. *J Exp Med* 2007 ; 204 : 2047-2051
- 9) Dobbs AK et al : A hypomorphic mutation in $Ig\beta$ (CD79b) in a patient with immunodeficiency and a leaky defect in B cell development. *J Immunol* 2007 ; 179 : 2055-2059
- 10) Minegishi Y et al : An essential role for BLNK in human B cell development. *Science* 1999 ; 286 : 1954-1957
- 11) Grimbacher B et al : Homozygous loss of ICOS is associated with adult-onset common variable immunodeficiency. *Nat Immunol* 2003 ; 4 : 261-268
- 12) Salzer U et al : Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet* 2005 ;

- 37 : 820-828
- 13) Castigli E et al : TACI is mutant in common variable immunodeficiency and IgA deficiency. *Nat Genet* 2005 ; 37 : 829-834
 - 14) van Zelm MC et al : An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 1901-1912
 - 15) Kanegane H et al : Novel mutations in a Japanese patient with CD19 deficiency. *Genes Immun* 2007 ; 8 : 663-670
 - 16) Aruffo A et al : The CD40 ligand, gp39, is defective in activated T cells from patients with X-linked hyper-IgM syndrome. *Cell* 1993 ; 72 : 291-300
 - 17) DiSanto JP et al : CD40 ligand mutations in X-linked immunodeficiency with hyper-IgM. *Nature* 1993 ; 361 : 541-543
 - 18) Ferrari S et al : Mutations of CD40 gene cause an autosomal recessive form of immunodeficiency with hyper IgM. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 12614-12619
 - 19) Revy P et al : Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal recessive form of the hyper-IgM syndrome (HIGM2). *Cell* 2000 ; 102 : 565-575
 - 20) Imai K et al : Human uracil-DNA glycosylase deficiency associated with profoundly impaired immunoglobulin class-switch recombination. *Nat Immunol* 2003 ; 4 : 755-760
 - 21) Péron S et al : Human PMS2 deficiency is associated with impaired immunoglobulin class switch recombination. *J Exp Med* 2008 ; 205 : 2465-2472
 - 22) Yong PFK, Chee R, Grimbacher B : Hypogammaglobulinemia. *Immunol Allergy Clin N Am* 2008 ; 28 : 691-713
 - 23) Bruton OC : Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952 ; 9 : 722-728
 - 24) Coffey AJ et al : Host response to EBV infection in X-linked lymphoproliferative diseases results from mutations in an SH2-domain encoding gene. *Nat Genet* 1998 ; 20 : 129-135
 - 25) Sayos J et al : The X-linked lymphoproliferative-disease gene product SAP regulates signals induced through the co-receptor SLAM. *Nature* 1998 ; 395 : 462-469
 - 26) Rigaud S et al : XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome. *Nature* 2006 ; 444 : 110-114
 - 27) Doffinger R et al : X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency is caused by impaired NF- κ B signaling. *Nat Genet* 2001 ; 27 : 277-285
 - 28) Jain A et al : Specific missense mutations in NEMO result in hyper-IgM syndrome with hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Nat Immunol* 2001 ; 2 : 223-228
 - 29) Soresina A et al : Different clinical and immunological presentation of ataxia-telangiectasia within the same family. *Neuropediatrics* 2008 ; 39 : 43-45

免疫不全症の FACS による 簡易診断法

金兼弘和¹⁾/堺千賀子²⁾/宮脇利男³⁾

(SUMMARY) 免疫不全症は生体の免疫系を維持するうえで必要な免疫担当分子の先天性欠陥によって生じる。障害部位によって分類され、150種類以上からなる雑多な症候群であるが、120種類以上で責任遺伝子が同定されており、遺伝子診断による確定診断が可能である。しかし遺伝子解析には時間と労力を要する。利用可能なモノクローナル抗体があれば FACS による簡易診断が可能な疾患がいくつかあり、本稿では免疫不全症における FACS による簡易診断法について紹介したい。〔臨床検査 53:541-546, 2009〕

(KEYWORDS) 免疫不全症, FACS, モノクローナル抗体

はじめに

免疫不全症は自然免疫あるいは獲得免疫を構成する様々な分子の異常によって生じ、現在まで150種類以上の疾患が知られ、120種類以上でその原因遺伝子が同定されている¹⁾。免疫不全症は臨床的に区別しがたいものもあれば、同一疾患であっても臨床的多様性があるものも少なくなく、確定診断には遺伝子診断が欠かせない。しかし、遺伝子解析は時間・労力・コストを要することはいうまでもない。一方、フローサイトメトリー (fluorescence-activated cell sorting; FACS) は簡単で感度のよい検査法であり、適するモノクローナル抗体があれば免疫担当細胞の異常である免疫不全症をスクリーニングするうえで FACS

表 免疫不全症の診断における FACS の適応

機能解析による
慢性肉芽腫症 (活性酸素産生能)
IRAK4 欠損症 (TNF- α 産生能)
特異的細胞亜群
自己免疫性リンパ増殖症候群 (ダブルネガティブ T 細胞)
X 連鎖リンパ増殖症候群 (ナチュラルキラー T 細胞)
細胞表面疾患特異的蛋白
X 連鎖重症複合免疫不全症 (共通 γ 鎖)
X 連鎖高 IgM 症候群 (CD40 リガンド)
白血球接着不全症 (CD11/CD18)
慢性肉芽腫症 (gp91/p22-phox)
CD19 欠損症 (CD19)
インターフェロン γ /インターロイキン 12 レセプター欠損症
細胞内疾患特異的蛋白
X 連鎖無ガンマグロブリン血症 (BTK)
Wiskott-Aldrich 症候群/X 連鎖血小板減少症 (WASP)
X 連鎖リンパ増殖症候群 (SAP/XIAP)
家族性血球貪食症候群 (パーフォリン)
Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (FOXP3)
ADA 欠損症 (ADA)
免疫不全を伴う外胚葉形成不全症 (NEMO)

()内は検査内容を示す。

は有用な検査である²⁾。

免疫不全症の診断において FACS が適応とされる疾患は様々であるが、適応とされる方法によって大きく4つに分類される(表)。一つには機能解析による免疫不全症の診断である。慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease; CGD) の古典的診断法として NBT (nitroblue tetrazolium)

1) KANEGANE Hirokazu 富山大学医学部小児科・講師

2) SAKAI Chikako 同科

3) MIYAWAKI Toshio 同科・教授

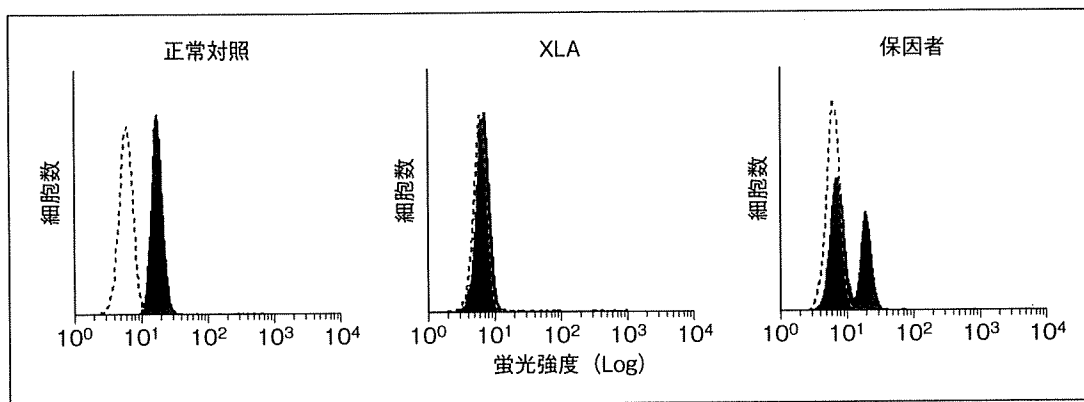


図1 CD14陽性単球におけるBTK蛋白の発現
点線はコントロール抗体, 黒塗りは抗BTKモノクローナル抗体(48-2H)による染色を示す。

還元能試験があるが, 最近では dihydroxyrhodamine 色素を使った FACS による診断法がよく用いられており, 外注検査でも可能である。また肺炎球菌に特異的易感染性を示す IRAK4 欠損症の単球では LPS (lipopoly saccharide) 刺激による TNF- α の産生が欠如しており, FACS によるスクリーニングが有用である³⁾。免疫不全症によっては特異な細胞亜群の増減を認めることがある。例えば自己免疫性リンパ増殖症候群では TCR- α / β ⁺CD4⁻CD8⁻T 細胞のいわゆるダブルネガティブ T 細胞の増加を認める。X 連鎖リンパ増殖症候群 (X-linked lymphoproliferative syndrome; XLP) は SAP 欠損によるタイプ 1 と XIAP 欠損によるタイプ 2 があるが, いずれの XLP でも V α 24⁺V β 11⁺CD3⁺T 細胞, すなわちナチュラルキラー T (NKT) 細胞の著減が特徴的である⁴⁾。疾患特異的蛋白に対するモノクローナル抗体が FACS に利用可能であれば診断に有用である。その蛋白が細胞表面に存在すれば通常の染色法で診断可能であり, 多くの抗体が商業ベースで入手可能である。例えば X 連鎖重症複合免疫不全症 (X-severe combined immunodeficiency; X-SCID), X 連鎖高 IgM 症候群, 白血球接着不全症, CGD, CD19 欠損症, インターフェロン γ /インターロイキン 12 レセプター欠損症などがこの方法によって診断可能である。疾患特異的蛋白が細胞内あるいは核内に存在する場合には, 細胞を固定後, 膜透過性を高めた後に染色を行うことによって FACS による診断が可能である。当教室で X 連鎖無ガンマグロブリン血症 (X-linked agammaglobulinemia; XLA) の診断法を報告し

たのを皮切りに, Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS)/X 連鎖血小板減少症 (XLT), XLP, 家族性血球貪食症候群, immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX), アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症, 免疫不全を伴う外胚葉形成不全症などで FACS による簡易診断法が報告されている。

すべての疾患について解説することは誌面の都合上困難であり, 本稿では主だった疾患である XLA, XLP, SCID, WAS, IPEX における FACS による簡易診断法について概説する。

X 連鎖無ガンマグロブリン血症 (XLA)

XLA は生後半年以降の繰り返す細菌感染症, 低または無ガンマグロブリン血症, 末梢血 B 細胞欠損 (2% 以下) を特徴とする古典的抗体産生不全症である。XLA は B 細胞分化に必須な細胞内チロシンキナーゼである *BTK* の変異によって生じる。*BTK* を同定した大阪大学の塚田博士より *BTK* 蛋白に対するモノクローナル抗体を供与してもらい, FACS による XLA の簡易診断法を当教室で開発した⁵⁾。まず western blot を行ったところ, *BTK* は B 細胞のみならず単球にも発現していた。XLA 患者において末梢血 B 細胞は欠損しているが, 単球は正常に存在しているので, 単球における *BTK* 蛋白の発現を調べれば XLA の診断が可能ではないかと考えた。方法は末梢血単核球をまず PE 標識抗 CD14 抗体で染色し, 4% パラフォルムアルデヒドで固定後, 0.1% Triton

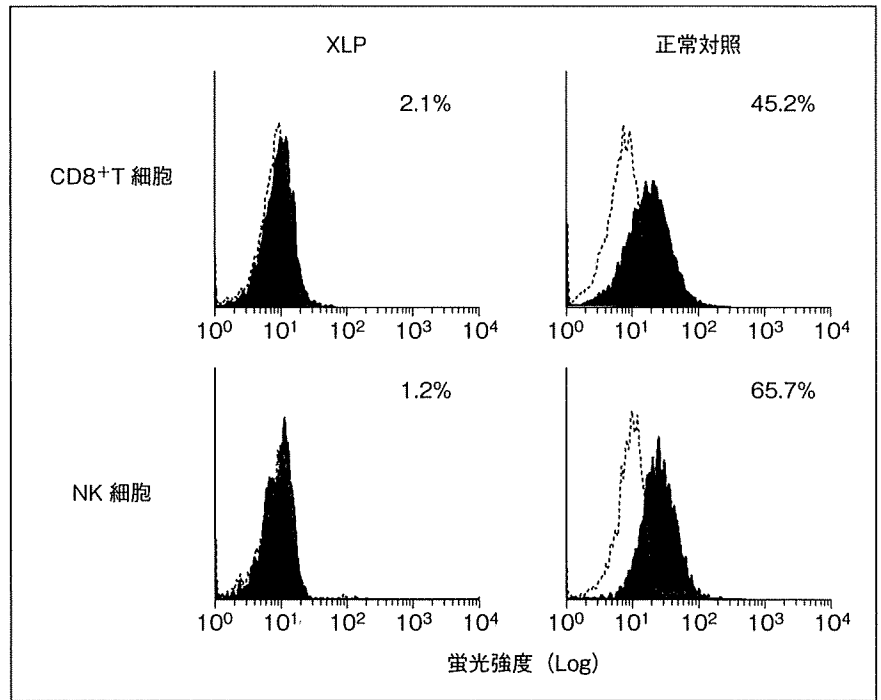


図2 FACSによるSAP蛋白の発現
点線はコントロール抗体、黒塗りは抗SAPモノクローナル抗体(KST-3)による染色を示す。数字は陽性細胞率を示す。

X-100で細胞膜の透過性を高める。抗BTKモノクローナル抗体(48-2H)で染色後、FITC標識2次抗体で染色し、FACSによる解析を行った。

正常では単球にBTK蛋白を認めるが、XLA患者ではBTK蛋白の発現が欠損している(図1)。興味深いことに保因者ではBTK蛋白の発現がモザイクに認められた。western blotによるXLAの診断も可能であるが、FACSでは患者診断のみならず、保因者診断も可能である点で優れている。これまで当教室では国内外を含めて200例以上のXLAについてFACSによる診断を行っており、この方法の長所・短所が明らかとなった。長所としてXLAの患者・保因者診断が迅速にできること、ほとんどの患者でBTK欠損が認められること、BTK遺伝子変異が同定できない患者でも診断可能であること、遺伝子解析より安価であることが挙げられる⁶⁾。一方、短所として一部のミスセンス変異(R28C, R307S, D521Hなど)ではBTK蛋白の発現が正常なため診断できないこと、BTK蛋白の発現が正常な保因者も診断できないことがある。これらの短所を踏まえてもFACSはXLAの患者・保因者診断のスクリーニングとして極めて有用である。

X連鎖リンパ増殖症候群(XLP)

XLPはEB(Epstein-Barr)ウイルス感染に対する免疫応答の欠陥を有する免疫不全症であるが、臨床的多様性があり、家族歴が明らかでない臨床診断が困難である。主な症状として致死性伝染性単核症(60%)、悪性リンパ腫(30%)、異常ガンマグロブリン血症(30%)のほかに再生不良性貧血、リンパ性血管炎、リンパ様肉芽腫症などがある。1998年にその責任遺伝子SAP/SH2D1Aが同定され、遺伝子診断によって孤発例であっても診断可能となった⁷⁾。われわれはXLAと同様にXLPにおいてもFACSによる簡易診断法を開発した。FACSに利用可能なSAP蛋白に対するモノクローナル抗体がなかったため、当教室で樹立した⁸⁾。SAP-GST蛋白をラットに免疫して得られた数種類のモノクローナル抗体のうちKST-3がFACSに利用可能であった。SAP蛋白は主にCD8⁺T細胞およびNK細胞に強く発現しており、XLP患者では正常対照に比べSAP蛋白の発現がほとんど認められない(図2)。これまで調べたところではSAP蛋白はすべてのXLP患者でその発現が低下しているが、一部のミスセンス変

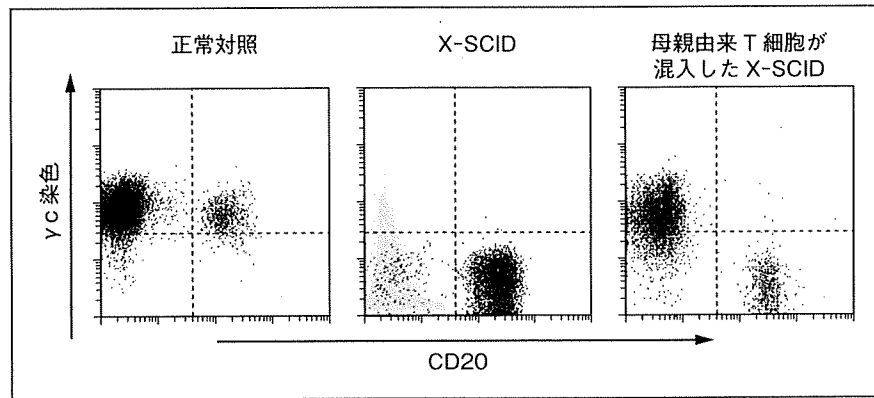


図3 FACSによる γ C染色
B細胞を認識する抗CD20抗体と抗 γ C(CD132)抗体との二重染色を示す。

異ではSAP蛋白発現が正常な場合もありうる。

すべてのXLP患者がSAP/SH2D1A変異によるわけではなく、一部はXIAP変異によるとされる⁴⁾。XIAP蛋白に対するモノクローナル抗体(28, BD Biosciences)はすでに入手可能であったため、FACSによるXLPタイプ2の簡易診断法を開発した。XIAP蛋白は正常では顆粒球に認められないが、リンパ球および単球で認められた。これまでXLPタイプ2はわが国では同定されていないが、FACSによるスクリーニングは可能と思われる。

前述したようにXLPではいずれのタイプであっても末梢血NKT細胞の欠損が認められるため、当教室ではXLP疑い患者をみた場合には、まずNKT細胞数を測定し、細胞内のSAPおよびXIAP蛋白の発現をFACSで調べる。その後、SAPおよびXIAP遺伝子変異を行うようになっている。

重症複合免疫不全症(SCID)

SCIDは生後間もなくから重症間質性肺炎などの重篤な感染症を合併するため、速やかに診断し、造血幹細胞移植を行わないと致死の経過をとる免疫不全症である。T細胞およびB細胞の分化にかかわる様々な分子の異常によって生じるが、約半数は男児のみに発症するX-SCIDであり、末梢血においてB細胞は正常に存在するためB+SCIDとも称される。X-SCIDは共通 γ 鎖(γ C)の異常によって起こるため、リンパ球における γ Cの発現を調べることでスクリーニング可能

である⁹⁾。B細胞を認識する抗CD19またはCD20抗体との2カラー解析が望ましい。正常対照ではすべてのリンパ球で γ Cの発現が認められるが、X-SCID患者ではリンパ球のほとんどがB細胞であり、かつ γ Cの発現が欠損している(図3)。X-SCIDと思われる患者でまれにT細胞が存在し、B細胞における γ Cの発現は欠損しているが、T細胞において γ Cの発現が認められる場合がある。これは母親由来のT細胞が経胎盤的に移行したSCIDである。

ADA欠損症はSCIDの一病型であるが、細胞内におけるADA蛋白の発現を調べることによって診断可能である¹⁰⁾。

Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS)

WASはサイズの減少を伴う血小板減少症、頑固な湿疹、易感染性を3徴とする免疫不全症であり、その原因遺伝子はWASPである。湿疹や易感染性を欠くXLTも同じWASP変異によって生じる。WAS/XLTもFACSによって細胞内WASP蛋白の発現を調べることによって容易に診断可能である^{11,12)}。本検査そのものが商業ベース(三菱化学メディエンス)で利用可能である。WASは造血幹細胞移植の適応であるが、細胞亜群ごとに移植後の免疫学的再構築を評価するためFACSは有用である¹³⁾。XLTは特発性血小板減少性紫斑病(idiopathic thrombocytopenic purpura; ITP)と誤診されやすいため、男児、特に乳児期発症のITPをみた場合にはFACSによる

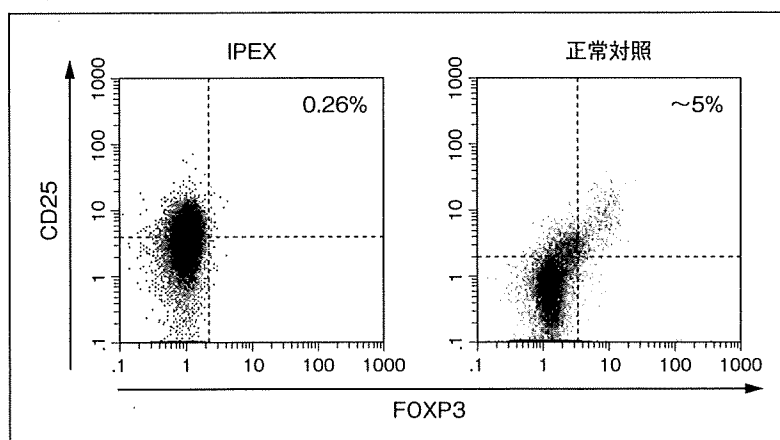


図4 CD25⁺CD4⁺T細胞におけるFOXP3の発現
CD4⁺T細胞におけるCD25とFOXP3の発現を示す。

WASPのスクリーニングを試みることを推奨したい。

Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX)

新生児期より水様性下痢，甲状腺炎や糖尿病などの内分泌異常，頑固な湿疹を3徴とし，男児に発症する稀な免疫不全症としてIPEXがある。IPEXの原因遺伝子は制御性T細胞のマスター遺伝子であるFOXP3である。FOXP3に対するモノクローナル抗体(クローン150D/E4)が入手可能であったため，細胞内FOXP3蛋白の発現をFACSにて調べた¹⁴⁾。通常FOXP3陽性細胞はCD25⁺CD4⁺T細胞に発現しており，全体の約5%程度であるが，IPEX患者ではFOXP3陽性細胞はほぼ0%に近い(図4)¹⁵⁾。現在は標識された抗FOXP3モノクローナル抗体(236A/E7, eBioscience)も商業ベースで入手可能である。

おわりに

FACSは一個一個の細胞レベルで蛋白の発現をみることができる感度のよい検査方法である。FACSによる免疫不全症の診断は利用可能なモノクローナル抗体が入手できればほとんどの疾患で応用可能であろう。ただし一部ミスセンス変異を有する患者では蛋白発現が正常であることに留

意が必要である。マルチカラー解析を利用すれば細胞亜群ごとに特異蛋白の発現を評価することができる。この方法によれば免疫不全症で稀に認められる先祖がえり(reversion)や体細胞変異を検出することが容易である。FACSは，免疫不全症の診断というまでもなく，造血幹細胞移植後のモニタリングにも有用な検査法である。正確な診断や遺伝カウンセリングのためには遺伝子診断は欠かすことができないので，FACSはあくまでスクリーニング検査として位置づけられる。細胞内蛋白の染色では固定法や膜透過性を高める方法は画一的なものではなく，個々の研究室で検討すべきであるが，抗体の入手や技術的な点で質問などがあれば筆者らまで連絡いただければ幸いである。免疫不全症では早期診断が極めて重要であり，FACSにより迅速なスクリーニングが行われることによって，多くの患者が救われることを切に願っている。

文献

- 1) Geha RS, Notarangelo LD, Casanova JL, et al: Primary immunodeficiency diseases: an update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee. J Allergy Clin Immunol 120: 776-794, 2007
- 2) Illoh OC: Current application of flow cytometry in the diagnosis of primary immunodeficiency diseases. Arch Pathol Lab Med 128: 23-31, 2004
- 3) Takada H, Yoshikawa H, Imaizumi M, et al: Delayed separation of the umbilical cord in two siblings with interleukin-1 receptor-associated kinase 4 deficiency: rapid screening by flow

- cytometer. *J Pediatr* 148 : 546-548, 2006
- 4) Rigaud S, Fondanèche MC, Lambert N, et al : XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome. *Nature* 444 : 110-114, 2006
 - 5) Futatani T, Miyawaki T, Tsukada S, et al : Deficient expression of Bruton's tyrosine kinase in monocytes from X-linked agammaglobulinemia as evaluated by a flow cytometric analysis and its clinical application to carrier detection. *Blood* 91 : 595-602, 1998
 - 6) Kanegane H, Futatani T, Wang Y, et al : Clinical and mutational characteristics of X-linked agammaglobulinemia and its carrier identified by flow cytometric assessment combined with genetic analysis. *J Allergy Clin Immunol* 108 : 1012-1020, 2001
 - 7) Sumazaki R, Kanegane H, Osaki M, et al : *SH2D1A* mutations in Japanese males with severe Epstein-Barr virus-associated illnesses. *Blood* 98 : 1268-1270, 2001
 - 8) Shinozaki K, Kanegane H, Matsukura H, et al : Activation-dependent T cell expression of the X-linked lymphoproliferative disease gene product SLAM-associated protein and its assessment for patient detection. *Int Immunol* 14 : 1215-1223, 2002
 - 9) Kumaki S, Ishii N, Minegishi M, et al : Characterization of the gammac chain among 27 unrelated Japanese patients with X-linked severe combined immunodeficiency (X-SCID). *Hum Genet* 107 : 406-408, 2000
 - 10) Otsu M, Hershfield MS, Tuschong LM, et al : Flow cytometric analysis of adenosine deaminase (ADA) expression : a simple and reliable tool for the assessment of ADA-deficient patients before and after gene therapy. *Hum Gene Ther* 13 : 425-432, 2002
 - 11) Yamada M, Ohtsu M, Kobayashi I, et al : Flow cytometric analysis of Wiskott-Aldrich syndrome (WAS) protein in lymphocytes from WAS patients and their familial carriers. *Blood* 93 : 756-757, 1999
 - 12) Kanegane H, Nomura K, Miyawaki T, et al : X-linked thrombocytopenia identified by flow cytometric demonstration of defective Wiskott-Aldrich syndrome protein in lymphocytes. *Blood* 95 : 1110-1111, 2000
 - 13) Yamaguchi K, Ariga T, Yamada M, et al : Mixed chimera status of 12 patients with Wiskott-Aldrich syndrome (WAS) after hematopoietic stem cell transplantation : evaluation by flow cytometric analysis of intracellular WAS protein expression. *Blood* 100 : 1208-1214, 2002
 - 14) Rondacor G, Brown PJ, Maestre L, et al : Analysis of FOXP3 protein expression in human CD4+CD25+ regulatory T cells at the single-cell level. *Eur J Immunol* 35 : 1681-1691, 2005
 - 15) Fuchizawa T, Adachi Y, Ito Y, et al : Developmental changes of FOXP3-expressing CD4+CD25+ regulatory T cells and their impairment in patients with *FOXP3* gene mutations. *Clin Immunol* 125 : 237-246, 2007

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

異常値の出るメカニズム 第5版

編集 河合 忠・屋形 稔・伊藤喜久

●B5 頁488 2008年
 定価6,300円(本体6,000円+税5%)
 [ISBN978-4-260-00560-9]

「異常メカ」、この長きにわたって医学生に親しまれてきた臨床検査の定番の入門書が、このたび5版を迎えた。初版から一貫して、患者に負担の少ない臨床検査を重視し、その検査結果を最大限に診療に活かす方策に到達するための考え方と知識を提供している。第5版では新たに、関節液、赤血球酵素など多項目に加え、遺伝子学検査の章も新設、さらなる充実版となった。薬学生にもお薦めの1冊。

医学書院 医学大辞典 第2版

総編集 伊藤正男・井村裕夫・高久史磨

●A5 頁3560 2009年
 定価18,900円(本体18,000円+税5%)
 [ISBN978-4-260-00582-1]

総見出し語数10万余・解説項目数5万2,000の圧倒的な情報量、高い信頼性を誇る本邦随一の医学大辞典、6年ぶりの改訂。豊富な図版、全ページカラー刷りのビジュアルティ、厳密な語義解釈による類義語の峻別が特長。全解説項目を最新知見に照らしてアップデートし、見出し語を1万余り拡充するとともに、読み仮名を併記。さらに、コンパクトな判型に変え、使い勝手を大幅に向上させた。

VIII. Wiskott-Aldrich 症候群

Ariga Tadashi

有賀 正

北海道大学大学院医学研究科小児科学分野教授

Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) は特徴的な臨床症状を示す X-連鎖劣性遺伝の原発性免疫不全症候群である。1994 年に WAS の病因遺伝子 (WASP) / 分子 (WASP) が同定されてから早期診断と早期治療が可能になり、その予後が改善されてきている。WASP は血液細胞にのみ発現し、細胞内で様々な分子と会合してアクチン重合の調節とシグナル伝達に関与する。また、WASP は分子内構造を変化させ、活性型 / 非活性型をとる事が示されている。WASP 分子の機能を明らかにする事によって、WAS 患者にみられる特異な病態の機序が解明され、さらには WASP 分子の基本的細胞機能における役割が理解される事が期待される。

原発性免疫不全症 / 血小板減少 / 難治性湿疹 / WAS / XLT / XLN / WASP / アクチン重合 / 血液幹細胞移植 / 遺伝子治療

はじめに

Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) は X-連鎖劣性遺伝の原発性免疫不全症候群である。その頻度は欧米では 25 万人に 1 人と言われ、本邦では 100 例近い登録があるが、まだ診断されていない症例も多いと推測される。その特徴的な臨床像のために WAS と思われる症例が古くから確認されており¹⁾、1950 年代には 1 つの独立した家族性の疾患として確立されていた²⁾。1994 年にその原因遺伝子 (WASP) / 分子 (WASP) が同定され³⁾、臨床像による診断から遺伝子レベルでの診断へと診断の迅速性と精度が向上し、さらに分子レベルでの病態解明が可能になってきている。WASP は血

液細胞におけるアクチン重合の重要な調節分子であるが、その WASP 分子の欠陥がどのような機序で WAS の特徴的な臨床像に起因するのか、その全容が解明されている訳ではない。WAS の免疫不全症としての臨床病態は T 細胞機能の障害が主体と考えられているが、基本的には全ての血液細胞において細胞骨格の異常とそれに関するシグナル異常に基づく機能的異常があり、免疫不全としても様々な側面を持つ。そのため、最新の免疫不全の分類表でも ataxia-telangiectasia などの DNA 修復欠陥を示す疾患群、DiGeorge 症候群や最近責任遺伝子が同定された高 IgE (immunoglobulin E) 症候群 (いくつかのタイプあり) などとともに、共通した免疫機構上の欠陥という観点からで

WAS (Wiskott-Aldrich 症候群)

IgE (immunoglobulin E)

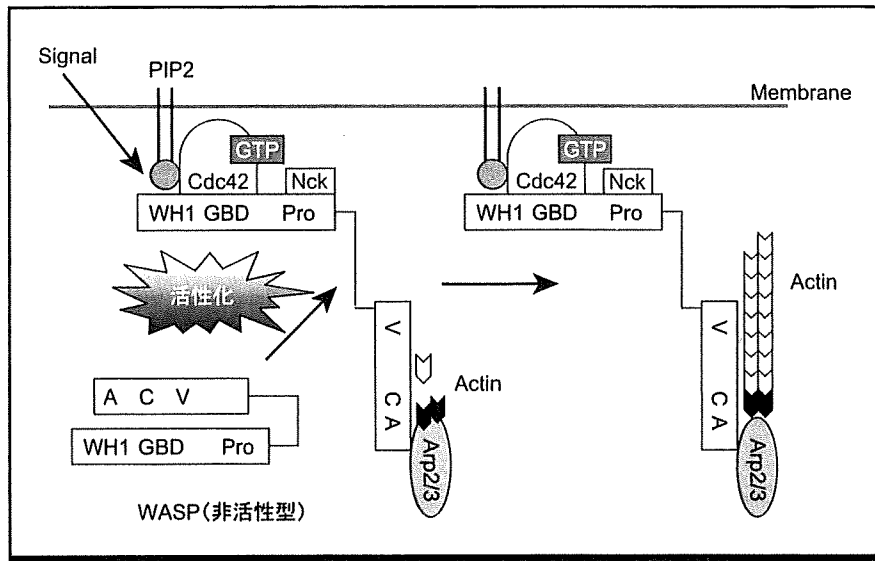


図1 WASP分子の分子構造と活性化機構

左下の非活性型WASPが活性化刺激によって分子内構造変化がおり活性化型に変化する。活性化したWASPには様々な分子が会合して矢印に示す流れでアクチンの重合がおこる。

WASPの機能ドメイン；WH1：WASP homology 1, GBD：G protein binding domain, Pro：proline rich region, V：verprolin homology, C：coffin homology, A：acid region

会合する主な分子；PIP2：phosphatidylinositol (4,5) biphosphate, Cdc42：cell division cycle 42, Nck：noncatalytic region of tyrosine kinase, GTP：guanine triphosphate, Arp2/3：Actin-related protein 2/3

(Cell 97：221-231, 1999より引用改変)

はなく、古くからの臨床的特徴で周知されている疾患群「その他の特徴的な免疫不全症 (other well defined immunodeficiency)」としてまとめられている⁴⁾。他の免疫不全疾患の群では類似の病態別にまとめられている事を考えると、WASの属している群は、異なった病態の疾患の寄せ集めであり、病態に基づく分類としては整理がまだ不完全な印象を持つ。

I. 病因 / 病態

WASはXp11.22-11.23に局在するWASP遺

伝子の変異によるWASP分子の欠陥が病因である。家系ごとに様々な部位・種類の変異が報告されているが、86番目のアミノ酸残基であるアルギニンが他のアミノ酸へ変換する変異はその中でも比較的頻度が高い⁵⁾。また、個々の変異とその臨床像との関係が集計されて解析され、ある程度の関連が示唆されている⁶⁾。ほとんどのWASではそのWASP分子が欠損しているか、きわめて少ない事が知られているが、後述する軽症型のX-linked thrombocytopenia (XLT)と診断される多くの症例ではN末側のミスセンス変異が多く、残

XLT (X-linked thrombocytopenia)

表1 WASP 変異による病型とその特徴

	WAS	XLT	XLN
血小板減少	あり	あり	なし
血小板サイズ	小	小	正常
湿疹	難治性+~+++	-~±	-
易感染性	あり	なし	なし
自己免疫疾患	よく合併する	まれに合併	なし
先天性顆粒球減少	なし	なし	あり
WASP 変異	部位も種類も様々 (機能喪失型)	エクソン 1-3 のミスセンス変異主体 (機能喪失型；残存機能あり)	Cdc42 結合部位のミスセンス変異 (機能獲得型)
WASP 分子の発現	きわめて少ないか欠損	存在するが少量	正常量存在

存 WASP を認める。WASP は細胞膜からの刺激が細胞骨格タンパクのアクチン再形成を促す過程に関わる一群のファミリー分子の1つで、血液細胞に特異的に発現している。細胞質内でWASPは多数の関連分子と会合してシグナル伝達にもかかわっており、図1に示すような幾つかの機能ドメインから構成される。さらに分子内の構造変化によって活性化型/非活性化型の2つの形態をとり⁷⁾、活性化に関与する様々な分子も解明されてきている。

II. 臨床像

免疫不全による易感染性、血小板減少による出血傾向、難治性の湿疹というのが古典的な臨床像の三徴である。易感染性は、莢膜を有する肺炎球菌などの感染症（肺炎、中耳炎、敗血症、髄膜炎など）や、ヘルペス属ウイルスの重症感染、ニューモシス肺炎などの罹患を特徴とする。血小板減少による易出血性としては粘血便、鼻出血などが多いが、死因ともなりうる頭蓋内出血もまれではあるが注意すべきである。血小板減少は血小板のサイズが小さい事がきわめて特徴的で、血小板容積は正常者の半分ほどである事が多い（3.8-

5.0 fl)⁸⁾。この血小板減少は摘脾によって改善する症例もある事から、一部は構造異常のために網内系でトラップされるのが原因であると推定されている。アトピー様皮疹は、治療抵抗性できわめて難治性である。年長となると自己免疫性溶血性貧血、腎炎や炎症性腸疾患などの自己免疫疾患を合併し、またリンパ系悪性腫瘍を高率に発症する事も特徴である。血小板数の異常は乳幼児でも認めるが、他の症状は成長とともに現れるため、乳幼児の診断は必ずしも容易ではない。WASではPaIgGが陽性の事もあり、慢性の特発性血小板減少症としてフォローされている事例も散見するので注意を要する。

III. WASP 変異による病型 (表1)

WASの病因遺伝子WASPが同定されてから、新たに2つの事実が展開された。1つは、臨床的にWASと一線を画されていた前述のXLTという疾患（血小板減少は認めるが免疫不全を認めず、湿疹はあってもきわめて軽症）の責任遺伝子がWASP遺伝子であると判明した事である⁹⁾。この事実からXLTとWASは同じ疾患である事が確認された。両者の違いは重症度の違いであると理解さ

表2 Wiskott-Aldrich 症候群の重症度分類

重症度クラス (病型)	臨床症状
クラス I (XLT)	血小板減少 ¹⁾ のみ
クラス II ²⁾ (XLT)	血小板減少 ¹⁾ + 軽症の湿疹 ± 軽症感染症
クラス III ²⁾ (WAS)	血小板減少 ¹⁾ + 持続性湿疹 + 反復感染
クラス IV (WAS)	血小板減少 ¹⁾ + 持続性・難治性湿疹 + 反復性重症感染症
クラス V (WAS, XLT ³⁾)	血小板減少 ¹⁾ + 持続性・難治性湿疹 + 反復性重症感染症 + 自己免疫疾患, あるいは悪性腫瘍

¹⁾ 血小板減少は血小板サイズが小さい事が特徴。

²⁾ 同一家系内の兄弟でクラス II/III とクラスが異なる事がある。また、同一症例でもクラスが変わりうる。

³⁾ 時に XLT はクラス II から自己免疫疾患を発症してクラス V となる症例がある。

れ、重症度分類(クラス I - II が XLT, クラス III - V が WAS) が示されている (表 2)。しかし、XLT 症例も年長になって自己免疫疾患を合併する事 (例えばクラス II からクラス V となる) も知られていたり、また同じ家系の兄弟でもそれぞれ重症度が異なって病型が異なる事があったりなど、WAS/XLT の違いは必ずしも明確ではない。他の 1 つは、先天性の顆粒球減少を示す疾患群の中で X linked neutropenia (XLN) という WAS/XLT とは全く臨床症状の異なる疾患が、リンケージ解析の結果 WASP 遺伝子が候補疾患に挙げられ、解析の結果 WASP 遺伝子が責任遺伝子だと判明した事である¹⁰⁾。この疾患で認める WASP 変異は、WAS/XLT では認められなかった変異で、WASP 分子の構造の中で活性型 / 非活性型を調節する特異な部位 (Cdc42 分子の結合部位) のミスセンス変異であった。この変異では細胞内の WASP タンパク量は正常で、この変異を持つ WASP は常に活性型を示す事が示されている。WAS/XLT の WASP 変異が機能喪失型であるのに対し、XLN の WASP 変異は機能獲得型ともいえる。この事は WASP 分子が顆粒球の分化 / 増殖にも関わって

る事を示すものであり、先天性顆粒球減少がどのような機序でひきおこされるのか興味深い。

IV. 臨床検査

免疫不全としての検査異常は多様である。多糖体に体する抗体産生不全があり、同種血球凝集素価の低値や莢膜を持つ肺炎球菌などに対する抗体産生不全を認める。典型例では血清 IgM が低値であり、血清 IgA・IgE は高値を示すが、症例ごとに多様で特に乳幼児では正常な事も多い。末梢血リンパ球数は年長とともに次第に減少していくのが特徴であり、アポトーシスの関与が示唆されている。また、T細胞受容体を介した刺激による増殖反応やサイトカインの産生の低下を示す。食細胞では遊走能、貪食能の低下がみられる。この様は異常の根底には WAS 患者の様々な細胞には運動性、ホーミングなどに異常があり、刺激に応じた細胞骨格の変化の欠陥とそれに関連するシグナル異常があるためと考えられる。

V. 診断

WAS は長期予後が良くない疾患であり、その

XLN (X linked neutropenia)

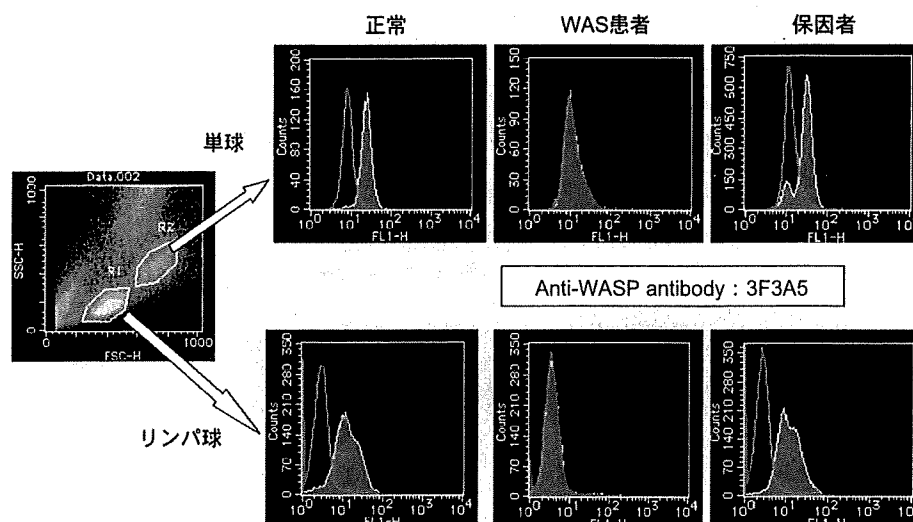


図2 フローサイトメトリーによるWAS患者・保因者診断

細胞内WASP分子をフローサイトメトリーで検出し、WAS患者の診断を試みた。リンパ球、単球ともに正常者ではWASP陽性であるのに対し、WAS患者ではWASPが陰性であった。保因者の母はリンパ球ではほとんどがWASP陽性だったが、単球の一部にWASP陰性細胞を認めた。

予後改善には早期診断に基づく早期の根治的治療が望ましい。年長患者のWASの診断は、上記の特徴的な臨床症状、検査結果で比較的容易であるが、家族歴のない乳幼児患者では特徴的な臨床症状、検査所見が必ずしも認められず、診断は容易ではない。臨床検査で重要なのは血小板減少のときの血小板サイズである。臨床症状としても血小板減少による出血傾向は最初に認める事が多いため、男性乳幼児の血小板減少では血小板のサイズに留意し（血小板の数が少ないため、一部の大きい細胞などを血小板と機械が誤認して正常な平均値を示す事もある。そのためヒストグラムでの検討が望ましい）、サイズの小さい血小板減少のときはこの疾患を疑って検査を進める必要がある。確定的な診断は遺伝子解析であるが、フローサイトメトリーによる細胞内WASP分子の検索が早

期診断にきわめて有用である（図2）¹¹⁾。ちなみに、この方法で単球を調べる事で母親等の保因者の診断も実施可能である事を私たちは示してきた。ヨーロッパの免疫不全学会（ESID）では、生まれつき血小板数7万/ μ L以下で血小板サイズの小さい男児症例を対象として表3のようなレベルごとの診断基準を提唱している。

VI. 治療

現状のWASに対する根治治療は血液幹細胞移植（HST）である。WASは個々の症例で重症度にかなりの相違があり、リスクを考えると臨床症状が軽いXLT症例を含めた全てのWAS症例に対してHSTが適応になるかは論議がある。一方、長期的にみるとXLTの症例の中にも自己免疫疾患を発症する例が少なくなく、必ずしも予後が良くな

ESID (ヨーロッパの免疫不全学会)

HST (血液幹細胞移植)

表3 Wiskott-Aldrich 症候群のレベルごとの診断基準

Definitive

Male patient with congenital thrombocytopenia (less than 70,000 platelets/mm³), small platelets and at least one of the following :

- 1) Mutation in WASP
- 2) Absent WASP mRNA on northern blot analysis of lymphocytes
- 3) Absent WASP protein in lymphocytes
- 4) Maternal cousins, uncles or nephews with small platelets and thrombocytopenia

Probable

Male patient with congenital thrombocytopenia (less than 70,000 platelets/mm³), small platelets and at least one of the following :

- 1) Eczema
- 2) Abnormal antibody response to polysaccharide antigens
- 3) Recurrent bacterial or viral infections
- 4) Autoimmune diseases
- 5) Lymphoma, leukemia or brain tumor

Possible

Male patient with thrombocytopenia (less than 70,000 platelets/mm³) and small platelets ; or a male patient splenectomized for thrombocytopenia who has at least one of the following :

- 1) Eczema
- 2) Abnormal antibody response to polysaccharide antigens
- 3) Recurrent bacterial or viral infections
- 4) Autoimmune diseases
- 5) Lymphoma, leukemia or brain tumor

(ESID のホームページ : <http://www.esid.org/workingparty.php?party=3&sub=2&id=73> より)

いとす報告もあり、再度 HST の適応基準が議論されている。本邦での WAS 57 症例に対する HST 実施の解析では、5 年移植成功生存率は 65.7%であった¹²⁾。成績が良くない移植として、年齢が 5 歳以上の移植、HLA ミスマッチ血縁からの移植、前処置が busulfan + cyclophosphamide 以外での移植が挙げられ、臍帯血を含めた

適切なドナーからの早期移植の重要性が指摘された¹²⁾。移植後のキメリズムの評価ではフローサイトメトリーによる WASP 分子の検索によってリネージごとの評価が可能であり、きわめて有用である (図 3)¹³⁾。

一方、レトロウイルスベクターを用いた血液幹細胞遺伝子治療は 2006 年にドイツのグループが

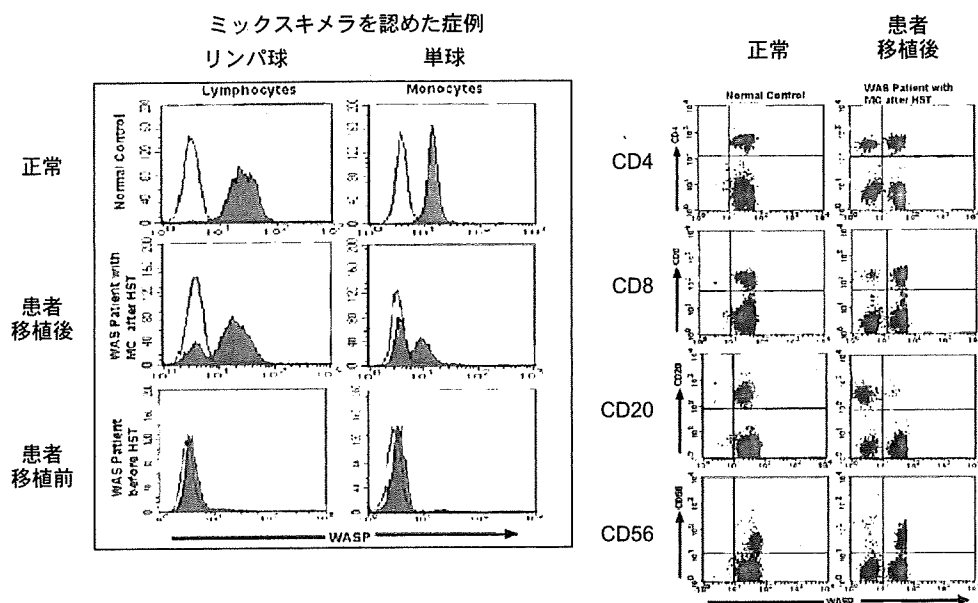


図3 血液幹細胞移植を受けた WAS 患者の病態解析

血液幹細胞移植後のキメリズム解析にフローサイトメトリーを用いて WASP 分子の検索を行った。ミックスキメラを認めた症例では、まずリンパ球と単球でのキメリズムが評価した。さらにリンパ球では細胞表面抗原と WASP 分子の二重染色にて、CD4、CD8、CD20、CD56 のそれぞれの分画でのキメリズムが評価できた。

(文献 13 より引用)

実施しており、詳細はまだ不明であるが臨床的な改善と免疫学的な改善が報告されている¹⁴⁾。長期的な安全性と有効性の評価が必要ではあるが、将来的に新たな根治治療の柱となる事を期待したい。

WAS に対する補助的な治療は、様々な症状に対してのものがある。血小板減少に対してのステロイドやガンマグロブリンの大量療法は無効であるが、摘脾は一定の効果がある。しかし、摘脾は免疫抑制を強める事もあるためその点に留意すべきである。湿疹は治療に抵抗性でステロイド塗布はあまり有効でない。湿疹に細菌などの感染症を合併する事も留意すべきで、その際には抗菌剤が使用される。免疫不全に対しては、予防的な ST 合

剤、抗真菌剤の投与が行われ、肺炎球菌などの特異抗体の低い例にはガンマグロブリンの補充が有効である。溶血性貧血などの自己免疫疾患に対してはステロイドの使用が中心になるが、感染を誘因、増悪する可能性がある。ガンマグロブリンの補充をしながら抗 CD20 抗体の使用治療がより安全であるという意見もある。

VII. トピックス

WAS と診断された患者の WASP 陰性単核球の一部に WASP が陽性となった細胞集団を認める体細胞モザイクの症例が検出されている¹⁵⁾。特に WAS の診断のためフローサイトメトリーにて