

WASP の検索を試みるが多くなったため、同様の事例が集積されており、予想外に多い事が示唆されている。母親由来の WASP 変異が一部の細胞で正常化した場合と、別の変異が加わった結果、変異 WASP 分子の機能が改善する場合とが報告されている。WASP 分子の機能が回復した細胞が生体内で他の細胞よりも増殖優位性を示し、一群の細胞集団として検出されたものと考えられる。一部ではその臨床症状の修飾が推測されているが、実際の評価は難しい。この現象は、他の原発性免疫不全症の X-SCID (伴性重症複合免疫不全症) や ADA (adenosine deaminase) 欠損症でも認められており、Natural gene therapy と称され、WAS に対する血液幹細胞遺伝子治療の有効性を裏付ける現象としても注目されている¹⁶⁾。

おわりに

WAS は、WASP 分子異常のために細胞の基本的な機能に障害を持つ原発性免疫不全症であり、様々な血液細胞の構造・機能異常を呈する疾患で、原発性免疫不全症の中でも特異な特徴を持つ。WASP 分子の生理的役割の解明がより進み、WAS の特異な病態の機序解明や刺激に応じた細胞形態変化のより詳細な理解が進む事が期待される。

文献

- 1) Wiskott A : Familiärer, angeborener Morbus Werlhofii? *Monatsschr Kinderheilkd* **68** : 212-216, 1937
- 2) Aldrich RA, Steinberg AG, Campbell DC : Pedigree demonstrating a sex-linked recessive condition characterized by draining ears, eczema-toid dermatitis and bloody diarrhea. *Pediatrics* **13** : 133-139, 1954
- 3) Derry JM, Ochs HD, Francke U : Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. *Cell* **78** : 635-644, 1994
- 4) Geha RS, Notarangelo LD, Jean-Laurent, Casanova J-L 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
- 5) Ochs HD, Thrasher AJ : The Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol* **117** : 725-738, 2006
- 6) Imai K, Nonoyama S, Ochs HD : WASP (Wiskott-Aldrich syndrome protein) gene mutations and phenotype. *Curr Opin in Allergy and Clin Immunol* **3** : 427-436, 2003
- 7) Kim AS, Kakalis LT, Abdul-Manan N et al : Auto-inhibition and activation mechanisms of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Nature* **404** : 151-158, 2000
- 8) Ochs HD, Slichter SJ, Harker LA et al : The Wiskott-Aldrich syndrome : studies of lymphocytes, granulocytes, and platelets. *Blood* **55** : 243-252, 1980
- 9) Villa A, Notarangelo L, Macchi P et al : X-linked thrombocytopenia and Wiskott-Aldrich syndrome are allelic diseases with mutations in the WASP gene. *Nat Genet* **9** : 414-417, 1995
- 10) Devriendt K, Kim AS, Mathijs G et al : Constitutively activating mutation in WASP causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Genet* **27** : 313-317, 2001
- 11) Yamada M, Ohtsu M, Ariga T 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) Kobayashi R, Ariga T, Nonoyama S et al : Outcome in patients with Wiskott? Aldrich syndrome following stem cell transplantation : an analysis of 57 patients in Japan. *British J Haematol* **135**, 362-366, 2006
- 13) Yamaguchi K, Ariga T, Masafumi Y 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) Klein C : Hematopoietic stem cell gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome. ASGT 11th Annual Meeting, May 28-June 1, 2008, Boston, MA, USA
- 15) Ariga T, Yamaguchi K, Yamada M et al : Spontaneous in vivo reversion of an inherited mutation in the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Immunol* **166** : 5245-5249, 2001
- 16) Hirschhorn R : In vivo reversion to normal of inherited mutations in humans. *J Med Genet* **40** : 721-728, 2003

無ガンマグロブリン血症

Agammaglobulinemia

有賀 正

北海道大学大学院医学研究科 生殖・発達医学講座 小児科学分野 教授

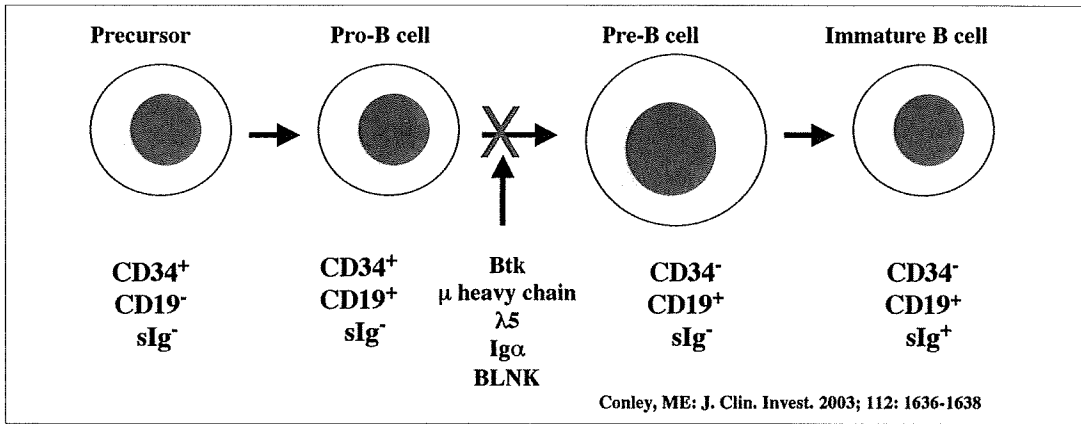


図1. 主な無ガンマグロブリン血症の病因遺伝子

B細胞の分化成熟におけるその代表的表面マーカーの変化を示す。それぞれの病因遺伝子の欠陥によってPro-B cellからPre-B cellに分化する課程が傷害されている(X)
slg: 表面免疫グロブリン

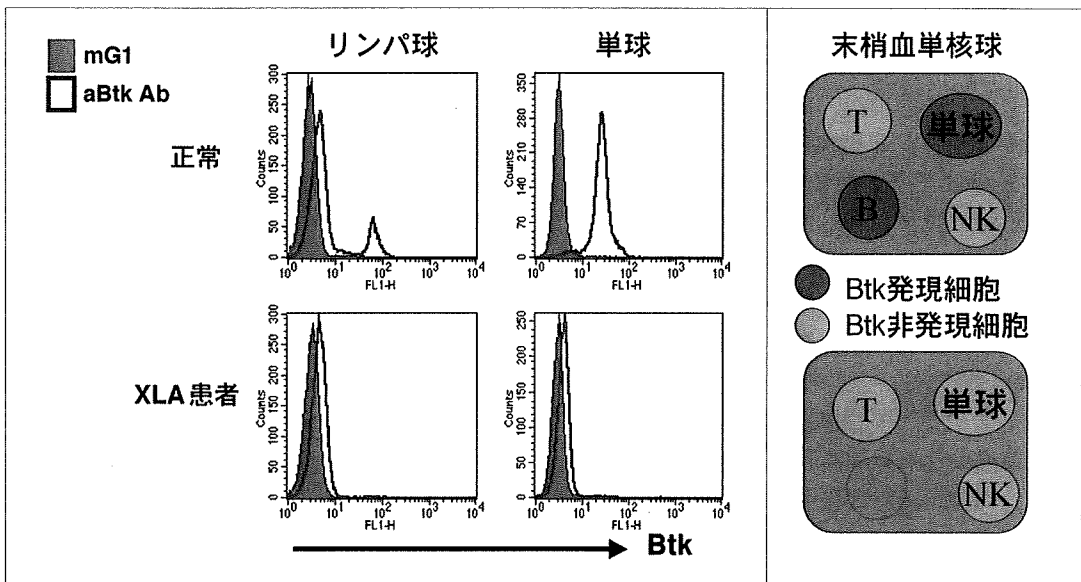


図2. フローサイトメトリーによるBtk蛋白発現の解析

Btkは細胞質内で発現するため、細胞膜に穴をあけて解析する。末梢血ではB細胞と単球がBtkを発現している。左の図ではリンパ球と単球をそれぞれゲートして解析している。正常ではBtk陽性のB細胞があるため、リンパ球にBtk陽性の小集団(B細胞)を認め、単球もBtkが発現していることを示す。XLAの患者のリンパ球ではそもそもB細胞がないため、正常人で認めたようなBtk陽性群を認めない。しかし、単球の解析で患者ではBtkが発現していないことが示され、XLAである可能性が強く示唆される。右の図は正常、XLA患者それぞれで末梢血単核球がどのような構成からなっているかを簡便に示している
mG1:コントロール抗体, aBtk Ab: 抗Btk抗体

無ガンマグロブリン血症				低ガンマグロブリン血症(新規)			
遺伝子	遺伝形式	遺伝子局在	備考	遺伝子	遺伝形式	遺伝子局在	備考
BTK	XL	Xq21.3-q22		ICOS	AR	2q33	
μ heavy chain	AR	14q32.33		CD19	AR	16q11.2	
λ5	AR	22q11.2		TACI	AD or AR	17q11.2	
Igα	AR	19q13.2		BAFFR	AR	22q13.1-q13.31	
BLNK	AR	10q23.2		低ガンマグロブリン血症(既知・他の免疫不全症原因遺伝子)			
				遺伝子	遺伝形式	遺伝子局在	備考
				BTK	XL	Xq21.3-q22	XLAの原因遺伝子
				CD40LG	XL	Xq26	X-Hyper IgMの原因遺伝子
				AID	AR or AD	12q13	Hyper IgM 2型の原因遺伝子
				CXCR4	AD	2q21	WHIM症候群の原因遺伝子
				SAP	XL	Xq25	XLPの原因遺伝子

表1. 無ガンマあるいは低ガンマグロブリン血症の原因遺伝子

症例紹介

2歳男児。出生歴に異常なし。家族歴では、母方の叔父が幼少時に感染症を繰り返し、重症感染症で死亡している。生後6-7カ月より中耳炎、肺炎などで入退院を繰り返していた。2歳時、再度肺炎に罹患したが抗生物質にて軽快した。細菌感染を繰り返すことから血清ガンマグロブリンを測定した結果、血清IgG<100mg/dL, IgA<10mg/dL, IgM<10mg/dLであった。末梢血のリンパ球サブセットでB細胞は<1%であり、無ガンマグロブリン血症と診断した。家族歴からX-連鎖遺伝を疑い、フローサイト検査にてBTK蛋白の発現を単球で検索したところ、陰性であった。遺伝子解析にてBTK遺伝子の変異を検出し、X-連鎖無ガンマグロブリン血症と確定診断した。以後、定期的なガンマグロブリン補充を行っている。

疾患解説

■ 概念

無ガンマグロブリン血症はB細胞の遺伝的な欠陥のため、血清のガンマグロブリン(IgG, IgA, IgM, IgEなど)が欠損する病態を示す疾患群である。末梢血B細胞も欠如する。男児だけが罹患するX-連鎖無ガンマグロブリン血症(XLA; Btk遺伝子変異が病因)が主体(85%)であるが、まれな常染色体劣性遺伝の病型も確認されてきている。B細胞の分化段階、特にプロB細胞からプレB細胞への分化段階に関与する遺伝子の変異が病因となる(図1, 表1)。頻度はおよそ5-10万人に1人の割合とされる。

一方、低ガンマグロブリン血症(例えばIgGが200-400mg/dL)を示す易感染性病態があり臨床的に区別されていた。原則として、末梢血B細胞は存在(減少)し、発症は乳児期以降が多い。ほとんどが病因不明で様々な病態が混在し、分類不能型免疫不全あるいはcommon variable immunodeficiency(CVI)とまとめられていた。しかし、最近ではCVIとされていた病態の中からもいくつかの病因遺伝子が同定され、分類の整理が進んでいる(表1)。

一方、低ガンマグロブリン血症を示す症例でも、Btk遺伝子異常のXLAである症例がまれでなく確認されている。また、血清のガンマグロブリンが低値になる状態には、遺伝的なものばかりではなく、ネフローゼ、ウイルス感染、薬

剤などに起因する二次的な場合があることにも留意すべきである。

■ 臨床症状

母親からの移行抗体が消失する生後半年位から易感染性を示すようになる。肺炎球菌、インフルエンザ桿菌、連鎖球菌、ブドウ球菌などの細菌による肺炎、中耳炎、髄膜炎、副鼻腔炎などを繰り返す。ウイルス感染症は通常経過することが多いが、エンテロウイルスによる中枢神経感染症は特に注意すべきであり、慢性・持続性に経過して治療に抵抗性を示す。ポリオ生ワクチンは禁忌である。

■ 診断

血清の免疫グロブリン値、末梢血B細胞数、家族歴などが診断に有用である。大多数を占めるXLAの場合は、単球細胞内のBtk分子をフローサイトメトリー検索することで迅速診断が可能である(図2)。最終的には遺伝子解析で確認される。

■ 治療

定期的なガンマグロブリン投与が行われる。症例ごとに投与量、投与回数を検討すべきであるが、原則として200-400mg/kgの静注用ガンマグロブリンを3-4週ごとに投与し、投与直前の値を400-500mg/dLにすべきである。最近では、600mg/dL以上を推奨する意見もある。

■ 予後、合併症

慢性の呼吸器感染症(慢性気管支炎、気管支拡張症)、エンテロウイルスによる中枢神経感染症を防ぐことが予後を左右する。定期的なガンマグロブリン補充を十分量している症例は、長期的な予後は良いと考えられているが、実際にはそのような症例数がまだ少ないため、その評価が待たれる。

【参考文献】

- 1) Tsukada S, et al.: Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 1993; 72: 279-290
- 2) Vetrie D, et al.: The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the *src* family of protein-tyrosine kinases. *Nature* 1993; 361: 226-233
- 3) Conlely ME, et al.: Genetic analysis of patients with defects in early B-cell development. *Immunol Rev* 2005; 203: 216-234
- 4) Salzer U, et al.: Common variable immunodeficiency: the power of co-stimulation. *Seminars in Immunology* 2006; 18: 337-346
- 5) Futatani T, 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* 1998; 91: 595-602

VIII. 免疫・アレルギー疾患-11

アデノシンデアミナーゼ欠損症・プリンヌクレオシドホスホリラーゼ欠損症

Adenosine deaminase deficiency・Purine nucleoside phosphorylase deficiency

有賀 正*

ARIGA Tadashi

① 基本病因, 発症機序

アデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症 (OMIM#102700) とプリンヌクレオシドホスホリラーゼ (PNP) 欠損症 (OMIM+164050) は、ともに原発性免疫不全症 (PID) であると同時に先天性代謝異常症としての側面をもつ常染色体劣性遺伝疾患である¹⁾。ADA 欠損症は 20 番染色体 q13.11 の ADA 遺伝子, PNP 欠損症は 14 番染色体 q13.1 の PNP 遺伝子の変異が病因である。

② 基本病態

ADA, PNP とともにユビキタスに発現している分子であるが、とくにリンパ球系細胞での発現が強い。ADA はアデノシン, デオキシアデノシンをそれぞれイノシン, デオキシイノシンへ代謝し, PNP はイノシン, デオキシイノシンをヒポキサンチンへ, グアノシン, デオキシグアノシンをグアニンへ代謝する酵素である (図)。先天性代謝異常症の特徴として, 欠損している ADA/PNP 酵素の基質やリン酸化された基質が蓄積し, それらが細胞毒性に働いてさまざまな障害をひき起こす。ADA 欠損症と PNP 欠損症では蓄積する毒性代謝産物が異なる。それらの蓄積の度合いやそれに対する感受性が組織/細胞によって異なることが両疾患の臨床症状や, 障害を受ける組織/細胞の違いとして説明されている。ADA 欠損症では主な毒性代謝産物として dATP (デオキシアデノシンがリン酸化された分子) が, PNP 欠損症では dGTP (デオキシグアノシンがリン酸化された分子) が想定されている。いずれもリンパ球系細胞に主に障害を進行性に与え

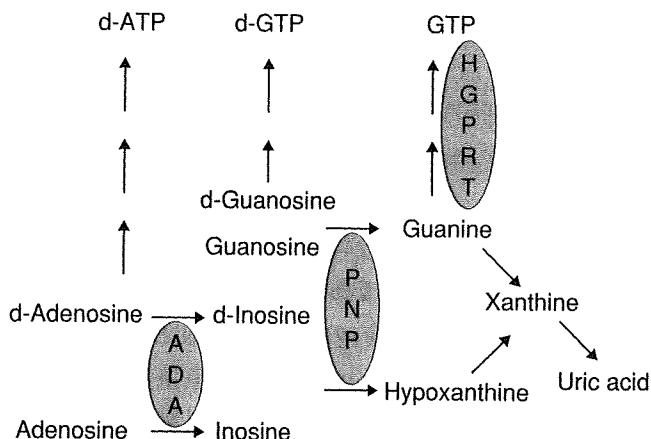


図 核酸代謝経路における ADA/PNP の役割

ADA: adenosine deaminase, PNP: purine nucleoside phosphorylase, HGPRT: hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase

(J Clin Invest 116: 2717-2726, 2006 より抜粋)

るが, dATP がより強い毒性を示し, dGTP は主に T 細胞系に障害を与えるとされている。

③ 病態生理からみた臨床症候

1972 年, Giblett が赤血球中 ADA 酵素活性のスクリーニングを行い, 偶然に ADA 欠損と重症複合免疫不全症 (SCID) の関連を発見したが²⁾, 1975 年, Giblett は同様のアプローチにより PNP 欠損症が複合免疫不全を呈することも見いだしている³⁾。現在の PID の分類では, ADA 欠損症, PNP 欠損症ともに T/B 細胞に欠陥を有する複合免疫不全症として理解されている¹⁾。

1. ADA 欠損症

SCID の約 15% を占める。T-B-NK-SCID とし、すなわち T, B, NK 細胞がいずれも著しく減少しているタイプとして分類されているが, 重症度はさまざまであり, 一見症状を示さないものを含め臨床的に 4 群に分けられる⁴⁾ (表 1)。重症度は ADA 遺伝子の変異の種類に基づく ADA 残存活性

* 北海道大学大学院医学研究科小児科学分野
[〒060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 丁目]
TEL 011-706-5954 FAX 011-706-7898
E-mail: tada-ari@med.hokudai.ac.jp

表1 ADA欠損症：臨床的重症度分類

SCID	生下時より高度のリンパ球減少あり。1歳未満で診断される。
Delayed onset	急速に臨床的悪化を示し、通常1~10歳までに診断される
Late onset	臨床的悪化は緩徐であり、通常10歳以上になって診断される
Partial ADA deficiency	正常の免疫能。赤血球では酵素の低下と毒性代謝産物が高値

から説明されている(表2)⁵⁾。他の SCID と同様にあらゆる病原体に対して易感染性を示し、重篤な細菌、真菌、ウイルス、日和見感染などを発症し、慢性の下痢による体重増加不良を示す。症例によってはリンパ球数の減少が進行する。免疫不全症以外の症状として約半数の症例で骨幹端の異常(とくに肋軟骨)を認め、ほかに肝酵素の上昇、まれに発達の遅れやけいれんなどの神経症状も報告されている⁶⁾。これらは ADA 関連毒性代謝産物の影響が免疫系以外にも起こることを示唆する。ADA 欠損症モデルマウスでは出生直後に肝不全で死亡し、肺や小腸にも病変を認める⁷⁾など、種の違いによって臨床像に差を認める。

2. PNP 欠損症

複合免疫不全症に分類されているが¹⁾、T細胞機能の欠損が主体である。数十例の報告のみで、ADA 欠損症に比べても非常にまれな疾患であり、まだ全体像が不明である⁸⁾。おそらく ADA 欠損症にみられるように、変異の種類によってさまざまな重症度を示す病態が想定される。細菌、ヘルペス

属を中心としたウイルス、真菌などに易感染性を示し、悪性腫瘍も好発する。免疫機構の破綻を背景とする自己溶血性貧血、特発性血小板減少症、SLE など自己抗体に起因する自己免疫疾患も約1/3の症例に認める。さまざまな神経症状を約2/3の症例に呈することも本疾患の特徴であり、早期から原因不明の発達遅延、筋力低下、痙性麻痺、てんかんなどの神経疾患として経過をみられていることもある。

4 病態生理からみた診断のための臨床検査

1. ADA 欠損症

ADA 欠損症は通常 SCID としてまず診断され、著明なリンパ球減少(500/ μ l 以下)が特徴である。前述のように T, B, NK いずれの細胞も減少している。胸部 X 線写真では SCID で共通の胸腺陰影欠損のほか、肋骨端の拡張(splaying and cupping)、肩胛骨の変形(squaring off)を約半数の患者に認めることがあり、他の原因による SCID との鑑別に役立つことがある。血液検査では、この骨変化を反映してアルカリホスファターゼ(ALP)の高値を認める。血液細胞中の ADA 酵素活性が著減/欠損し、アデノシン、デオキシアデノシン、dATP などが蓄積している。最終的には遺伝子解析にて診断される。

2. PNP 欠損症

PNP 欠損症では T 細胞が主体とした進行性のリンパ球減少がみられ、PHA や Con A に対するリンパ球芽球化反応低下など、主に T 細胞系の免疫異

表2 ADA 遺伝子変異と ADA 活性の関係(大腸菌 *E. Coli* Sf 3848 による発現実験)

Allele group	Mutations	ADA activity expressed percent of wild type (range)
0	Deletions, nonsense	0
I	H15D, H17P, G74V, G74D, A83D, R101L, R101Q, R101W, P104L, L107P, G140E, R149W, R156C, R211H, G216R, E217K, R235Q, S291L, A329V, E337del	0.015 \pm 0.02(0.001 to ~0.07)
II	V129M, R156H, V177M, A179D, Q199P, R253P	0.11 \pm 0.04(~0.06 to 0.17)
III	G74C, P126Q, R211C	0.42 \pm 0.19(0.27 to 0.63)
IV	R142Q, R149Q, A215T, G239S, M310T	8.3 \pm 11.3(1.03 to 28.2)
spl	Splicing	Variable

(Hershfield⁵⁾, 2003)

常を示す。B細胞、血清免疫グロブリン値は正常のことが多いとされているが、B細胞機能も進行性に低下するようである。抗核抗体などの自己抗体が存在し、X線上胸腺陰影は欠如する。生化学的検査では、血中、尿中の尿酸が特徴的にきわめて低値で、血中尿酸値は1 mg/ml以下である。赤血球やリンパ球中のPNP酵素活性は著減/欠損し、ヒポキサンチンの低値、イノシンの高値を示す。最終的には遺伝子解析にて診断される。

5 治療目標とその手順

1. ADA欠損症

典型的なADA欠損症では、SCIDとしての緊急的な根治治療を計画し、実行することが生命予後に直結する。移植実施までに既存する感染症の治療と、あらゆる病原体に対する感染予防が重要である。根治治療としては他の原因によるSCID同様に血液幹細胞移植がまず想定されるが、緊急性の面から骨髄バンクドナーからの移植は現実的ではない。ドナーはHLA一致同胞が理想であり、臍帯血バンクからの移植も増加しているが、ハプロ一致の親からの移植は現状ではあまり成績がよくない。本疾患特有の治療にポリエチレングリコール(PEG)-ADA酵素補充療法があげられる⁹⁾。安全で有効な治療であるが、重症タイプには十分な効果がないこと、また経済的な負担が大きいことなどが問題でわが国ではわれわれの経験した2症例のみ実施されている。また本疾患はいろいろな意味で初期の遺伝子治療の理想的な候補疾患であり、実際に遺伝子治療が初めて臨床応用された疾患として有名である。初めての遺伝子治療はレトロウイルスベクターを用いて末梢血T細胞を標的細胞とし、酵素補充との併用下の条件で実施された。その結果、根治的な効果は望めないものの一定の効果を示している¹⁰⁾¹¹⁾。その後、根治的な効果を期待して血液幹細胞標的遺伝子治療が試みられた。当初は酵素補充をしながら実施されたが効果を認めず、イタリアのグループが実施した酵素補充を中断し、さらに骨髄非破壊的な前処置を条件とした治療で初めて根治的な効果が認められた¹²⁾。われわれも酵素補充を中断し、骨髄破壊的な前処置をしない独自の条件下で2例のADA欠損

症患者に血液幹細胞標的遺伝子治療を実施し、その有効性を確認している¹³⁾。

2. PNP欠損症

PNP欠損症ではその緊急度は異なるが、現状では血液幹細胞移植が唯一の根治療法である。HLA一致の同胞からの移植、臍帯血移植の成功例が報告されている。ADA欠損症に用いられるような酵素補充は本酵素が37°Cにて不安定であるため現状では実施不可能で、効果は限られるが赤血球中の酵素活性を期待した照射した輸血の報告がある¹⁴⁾。理論的には遺伝子治療のよい候補疾患であると思われるが、症例数が少ないためか研究が遅れている。血液幹細胞移植は免疫システムの再構築には期待できるが、神経症状に対する治療効果は無効¹⁵⁾と有効¹⁶⁾の両方の報告がある。神経症状も進行性に進み、不可逆的なことを考えると本疾患の早期診断に基づく早期根治治療が望ましい。

6 予後

1. ADA欠損症

ADA欠損症はSCIDとしての病型が多く、他の原因によるSCIDと予後は変わらない。すなわち根治的な治療介入が速やかに行われなければ予後はきわめて悪く、1歳までに死の転機となることが多い。根治治療が成功すれば治癒が期待できるので早期診断、早期治療が重要である。Partial ADA欠損症(表1)は臨床症状を示さないとされるが、長期的な予後は不明である。

2. PNP欠損症

PNP欠損症はADA欠損症ほどには緊急性はないが、神経的な予後を考えるとやはり早期の根治治療：血液幹細胞移植が望ましい。根治治療が行われなければ、生命予後(感染症や悪性疾患)だけではなく神経学的予後も不良である。

<関連 Web site>

- ・ADA欠損症
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=102700>
- ・PNP欠損症
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispomim.cgi?id=164050>

文献

- 1) Geha RS, Luigi D, Notarangelo LD, 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) Giblett RE, Anderson JE, Cohen F, et al : Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet* **ii** : 1067-1069, 1972
- 3) Giblett RE, Ammann AJ, Wara DW, et al : Nucleoside-phosphorylase deficiency in a child with severe defective T-cell immunity and normal B-cell immunity. *Lancet* **i** : 1011-1013, 1975
- 4) Hirshhorn R : Overview of biochemical abnormalities and molecular genetics of adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Res* **3**(suppl) : S35-41, 1993
- 5) Hershfield MS : Genotype is an important determinant of phenotype in adenosine deaminase deficiency. *Curr Opin Immun* **15** : 571-577, 2003
- 6) Nofech-Mozes Y, Blaser SI, Kobayashi J, et al : Neurologic abnormalities in patients with adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Neurol* **37** : 218-221, 2007
- 7) Migchielsen AA, Breurer ML, van Roon MA, et al : Adenosine-deaminase-deficient mice die perinatally and exhibit liver-cell degeneration, atelectasis and small intestinal cell death. *Nat Genet* **10** : 279-287, 1995
- 8) Markert ML : Purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Immunodef Rev* **3** : 45-81, 1991
- 9) Hershfield MS : PEG-ADA : an alternative to haploidentical bone marrow transplantation and an adjunct to gene therapy for adenosine deaminase deficiency. *Hum Mutat* **5** : 107-112, 1995
- 10) Blaese RM, Culver KW, Miller AD, et al : T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID : initial trial results after 4 years. *Science* **270** : 475-480, 1995
- 11) Onodera M, Ariga T, Kawamura N, et al : Successful peripheral T-lymphocyte-directed gene transfer for a patient with severe combined immune deficiency caused by adenosine deaminase deficiency. *Blood* **91** : 30-36, 1998
- 12) Aiuti A, Slavin S, Aker M, et al : Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy, combined with non-myeloablative conditioning. *Science* **296** : 2410-2413, 2002
- 13) Ariga T : International Symposium : Gene Therapy Clinical Trials from Around the Globe, Hematopoietic stem cell gene therapy for two patients with Adenosine Deaminase (ADA) deficiency without myelopreparative conditioning ; a suggestion for the optimal protocol for HSC gene therapy for ADA deficiency. The 10th Annual Meeting of American Society of Gene Therapy, Seattle, USA, May 30-June 3, 2007
- 14) Staal GE, Stoop JW, Zegers BJ, et al : Erythrocyte metabolism in purine nucleoside phosphorylase deficiency after enzyme replacement therapy by infusion of erythrocytes. *J Clin Invest* **65** : 103-108, 1980
- 15) Classen CF, Schultz AS, Sigl-Kraetziq M, et al : Successful HLA-identical bone marrow transplantation in a patient with PNP deficiency using busulfan and fludarabine for conditioning. *Bone Marrow Transplant* **28** : 93-96, 2001
- 16) Delicou S, Kitra-Roussou V, Peristeri J, et al : Successful HLA-identical hematopoietic stem cell transplantation in a patient with purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Pediatr Transplantation* **11** : 799-803, 2007

* * *

北海道小児科医会会報

発行所 北海道小児科医会 札幌市中央区大通西 6 丁目 (北海道医師会館内)

発行人 富樫 武弘

目 次

巻 頭 言

- 遺伝子治療の最近の動向：2008年のASGTとJSGTに参加して 有 賀 正 2
 「内藤壽七郎記念賞」受賞の感謝を添えて 南 部 春 生 3
 内藤壽七郎先生を偲んで 門 脇 純 一 4

学術コーナー

- ロタウイルス感染症の最新の知見 中 田 修 二 6
 レンチウイルスベクターを使った遺伝子治療研究 水 江 伸 夫 11

施設紹介

- 北海道立子ども総合医療・療育センター 工 藤 亨 18

学会予報

- 第36回日本小児栄養消化器肝臓学会 今 野 武津子 19

学会案内

- 第14回日本腹膜透析研究会 & 第22回小児PD研究会 20
 第55回日本小児保健学会 20
 第41回日本小児呼吸器疾患学会 21
 第18回日本小児リウマチ学会 23
 第28回日本川崎病研究会 24
 第53回日本未熟児新生児学会学術集会 25
 第18回日本新生児看護学会学術集会 26
 第19回日本成長学会 27

学会報告

- 第25回日本小児心身医学会学術集会 氏 家 武 28

日本小児科医会委員会だより

- 平成19年度 北海道小児科医会行事状況 43
 平成19年度 北海道小児科医会会計収支決算 44
 平成20年度 北海道小児科医会会計収支予算 45

随 筆

- ことばの発達に関わって 沖 潤 一 46
 世界に通用する賢い日本国民に 田 下 昌 明 47
 高校時代の記憶 飛 世 千 恵 48
 ウズベキスタンとの出会い 長 野 奈 緒 子 49
 みどりサンの日記 桜 井 多 美 子 50
 還暦：次の人生の出発に向けて 長 和 彦 51
 学会の楽しみ 小 西 貴 幸 52

北海道小児科医会役員名簿 54

北海道小児科医会組織図 56

日本小児科医会役員名簿 (北海道選出) 57

北海道小児科医会会則 58

編集後記 59

巻頭言

遺伝子治療の最近の動向：

2008年のASGTとJSGTに参加して

北海道大学大学院医学研究科小児科学分野

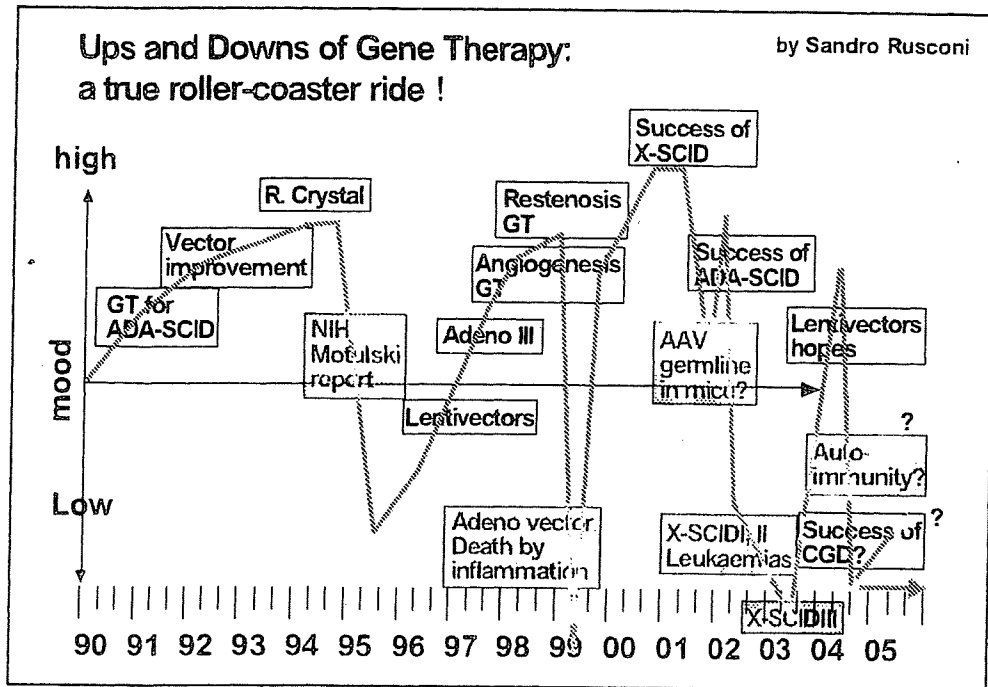
有賀正

巻頭言を依頼され、とりとめもない文章を書き始めたものの論旨がまとまらず、自分で読み返してもつまらなく、改めて文才がない事を再認識してしまった。母方の叔父は詩人でもあったはずなのだが、どうやら私にその才能は遺伝してこなかったようである。しばらくほったらかしにしていたところ、催促の葉書が届き、気の弱い私のお尻に火がついてしまった。さて、どうしたものであろうか？いろいろな考えた結果、今年の5月28日～6月1日のアメリカ遺伝子治療学会 ASGT (ボストン) と6月12～14日の日本遺伝子治療学会 JSGT (札幌：札幌医大新津教授主催) に出席して感じたことをもとに遺伝子治療の最近の動向を私の印象記として述べてみたい。驚く方も多いと思われる余談であるが、ASGTは今回が第11回目であるのに対し、JSGTは既に第14回目である。規模等とはともかく、日本の遺伝子治療学会の方がアメリカの遺伝子治療学会よりも歴史が長いというのが日本の関係者の自慢である。ちなみに第一回のJSGTでは崎山先生がJSGT賞を受賞している。

遺伝子治療学会の関係者は、様々な分野の研究者が関わっている。基礎研究者ではウイルス学、生化学、分子生物学、免疫学、血液学、遺伝学、薬学、そして色々な意味でのがん研究者。それぞれの切り口で研究されているが、口の悪い友人は特に基礎の研究者にはそれぞれの分野での超一流研究者は少なく、そのためか最終目標として臨床研究を目指すというビジョンがない(論文だけを目的とした)研究者が多いと断言するが、敵を作りたくない私としてはこの点に関してノーコメントとしたい。臨床研究者ではそれぞれの分野で治療法に難渋する疾患を持つほとんどの診療科が関係する。これまでの臨床研究においては、想定外の副作用事象例が発生した事もあり、基礎的な研究がまだ十分でないということ

が繰り返し指摘されていた。その反省からか研究の方向性のひとつに安全性に関する基礎的研究の重要性が再認識されてきている。対象疾患として小児科はそれぞれの分野での遺伝性疾患が中心であるが、内科系、外科系では後天的な疾患、特にガンに関連するものが多く、心血管系、神経変性疾患、感染症などが続く。最近になって眼科、皮膚科分野でも遺伝性疾患に対する研究が進んでおり、臨床研究も一部で始まっている。

今年度のASGTは初夏のボストンで行なわれた。ASGTは遺伝子治療に関する様々な分野の最先端の研究動向が分かる大規模な学会である。一般演題だけでも1000以上が発表される学会で、日本の研究者の参加も多い。今回のASGTは、遺伝子治療による重大副作用事象が発表されメディアを始め大騒ぎになった数年前のASGTのことを考えると、落ち着きを取り戻し、腰を据えた研究が多くなった印象を持った。実際について最近までの風潮として、遺伝子治療の研究に対する期待はジェットコースターの様に乱降下していた事実がある(図)。しかし、一般大衆とメディアの大きな期待と関心が再生医療に移行したためか最近ではこのような過度の反応は薄れ、研究自体にも成果を急がない姿勢が感じられる。このような着実な研究姿勢で進んでいけば、遺伝子治療の成果は将来的に十分期待できよう。ガンに対する臨床研究は、依然様々な角度から研究が盛んに行なわれている。一時その過度の期待に応えられない臨床成果に失望した空気があったが、抗がん剤との併用などきわめて現実的な臨床研究が印象的で、一部で着実な成果が報告されていた。第三相研究も一部で始まっているようである。ガンに対する遺伝子治療に比べ、明らかに戦略的にも単純で有望と考えられていた遺伝性疾患では、遺伝子導入の効率と遺伝子発現の長期化をどのように改善できるかという課題や、ベクターが組み込まれる際の安全性の課題というこれまでの課題の他に、遺伝子産物やベクターに対する免疫反応をどのようにおさえるかという新たな課題が加わってきている。例えば当初早期に治癒効果が期待されていた血友病に対する遺伝子治療臨床研究でも、満足する結果を得るためにはこの免疫反応の問題をクリアする新たなブレークスルーが必



要と考えられる。臨床研究の先駆けであった免疫不全の分野では新しく Wiskott-Aldrich 症候群への血液幹細胞遺伝子治療の臨床研究の報告があり注目を集めた。一方、X-SCID に対する遺伝子治療による白血病様副作用の症例がフランスの 4 例、イギリス 1 例と蓄積されてきている。1 例以外の経過は化学療法などで良好との事であるが、その発生機序の解明とその予防対策がきわめて重要な問題である。この問題はベクターが染色体へ組み込まれる方法による遺伝子治療全体の問題として認識されてきており、事実、血液幹細胞遺伝子治療が実施された慢性肉芽腫症の 2 例でも骨髓異形成症候群様の病態が報告され、底流に共通の機序の関与が示唆されている。最後に蛇足であるが 20 年前にボストンに留学していた私には懐かしい街を堪能し、旧友とも再会でき、大変有意義な参加であった。

JSGT も初夏の札幌において札幌医大の講堂などで行なわれた。会場が地元であるどうしても仕事の合間の参加という形になってしまう。今回の一般演題数は 100 題ほどであり、アジア遺伝子治療シンポジウムと合同した会であった。学会では座長をしたり、シンポジウムで発表をしたりと少し慌ただしく過ごし、一部の発表を聞く機会を逃してしまったが、一方では韓国の研究者と意見交換する事も出来た。我々は現在、成育医療センターの小野寺雅史先生（北大 62 期）を責任者とし、慢性肉芽腫症に対す

る遺伝子治療計画を推進中であるが、特に韓国の研究者から彼らの実施した慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療の様々な情報を得る事ができたことは大変有意義であった。

今回の ASGT、JSGT では中国や韓国からの参加者を多数認めた。両国では日本同様に遺伝子治療研究が盛んに行なわれており、それぞれの国での事情の違いはあっても、近い国同士協力し合って研究を進める事の重要性を再認識する事ができた。

「内藤壽七郎記念賞」

受賞の感謝を添えて

北海道小児科医会 顧問 南部 春生

私はこの度、千葉県幕張メッセ国際会議場で開催された、平成 19 年度日本小児科医会総会において「内藤壽七郎記念賞」受賞の栄に浴し、誠に夢のような話であり果報者と思っております。これもご推薦いただいた北海道小児科医会会長 富樫武弘先生ほか理事、会員各位、北海道小児科医会会員各位のお蔭と心より厚くお礼申し上げます。

私はもとより浅学菲才の身であり、多くの先輩、

日本臨牀 67 卷 増刊号 8 (2009 年 12 月 28 日発行) 別刷

広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査

—その数値をどう読むか—

[第7版]

(1)

III 生化学的検査[1] B. 酵素関係(アイソザイムを含む)

プリンヌクレオシドホスホリラーゼ(PNP)

有賀 正

III. 生化学的検査[1] B. 酵素関係(アイソザイムを含む)

プリンヌクレオシドホスホリラーゼ(PNP)

Purine nucleoside phosphorylase(PNP)

有賀 正

Key words : 原発性免疫不全症, 複合免疫不全症, 自己免疫疾患, 神経症状, 血液幹細胞移植

1. 概 説

purine nucleoside phosphorylase(PNP)は adenosine deaminase(ADA)とともにプリン代謝・サルベージ経路における代表的な酵素であり, inosine, deoxyinosine を hypoxanthine へ, guanosine, deoxyguanosine を guanine へ変換する. PNPの単量体としての分子量は32,153 Daで3量体を形成しており¹⁾(図1), その遺伝

子は染色体14q13.1に位置している. プリン代謝・サルベージ経路におけるPNPの役割をADA, hypoxanthine guanine phosphoribosyl-transferase(HGPRT)の役割とともに図2に示した²⁾. PNPはADA同様ユビキタスに発現しているが, 特にリンパ系での発現が強い. 後述するように, 先天性にPNPが欠損するとまれな複合免疫不全症が発症する. このことは先行して発見された事例; 先天性なADA欠損症によ

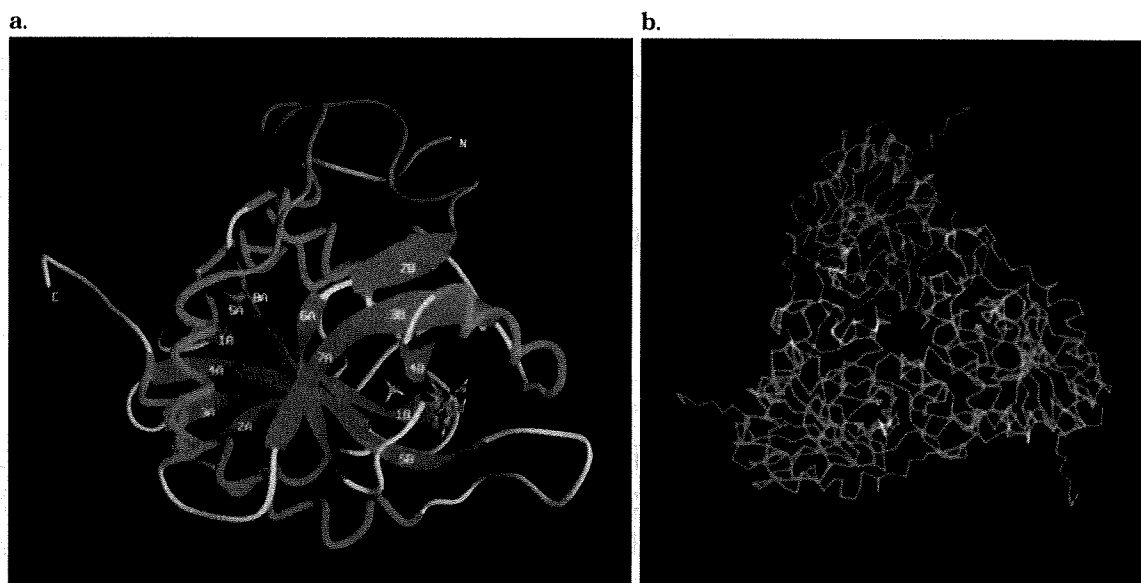


図1 PNPの立体構造(文献¹⁾より引用)

a. に単量体のPNPの分子立体構造, b. に3量体のPNP分子の立体構造を示す. 単量体では中心に β シート構造が集まり, その周りを α ヘリックスが囲んでいる. 左にC末端, 右にN末端があり, 隣のサブユニットとの結合は上部にあるループが関与する.

Tadashi Ariga: Department of Pediatrics, Hokkaido University Graduate School of Medicine 北海道大学大学院医学研究科 小児科学分野

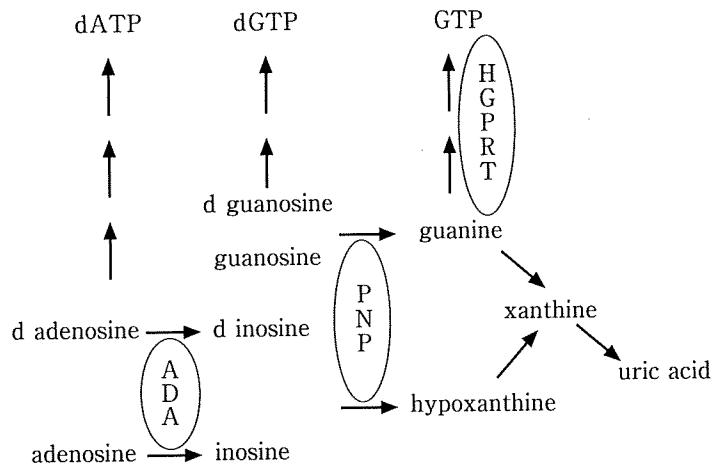


図2 核酸代謝経路における ADA/PNP の役割
(文献⁹⁾より引用)

ADA: adenosine deaminase, PNP: purine nucleoside phosphoribosyltransferase, HGPRT: hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase.

って重症複合免疫不全症が発症すること³⁾に続き、1975年に Giblett らによって報告されている⁴⁾。ADA 欠損症では主な毒性代謝産物として dATP (deoxyadenosine がリン酸化された分子) が、PNP 欠損症では dGTP (deoxyguanosine がリン酸化された分子) が想定されている。いずれも主にリンパ球系細胞に対して進行性に障害を与えるが、dATP がより強い毒性を示し、dGTP は主に T 細胞系に障害を与えるとされている。一方、このような事実を背景としてリンパ系悪性腫瘍に対する治療戦略が考案されてきており、PNP を標的分子とした様々な抗腫瘍薬剤が開発中である⁵⁾。

2. 検査の目的

PNP の測定は、原発性免疫不全症の一つである PNP 欠損症を疑う症例に対し、鑑別診断する際に実施するのが主な目的である。PNP 欠損症は早期診断、早期治療 (現状では血液幹細胞移植^{6,7)}、将来的には遺伝子治療も⁸⁾) によって治療が期待できる疾患であり、鑑別を必要とする症例に対して迅速に確定診断が可能な PNP の測定は重要な意味をもつ。

3. 試料の採取方法、保存条件

PNP はほとんどの細胞に発現している。PNP

測定のサンプルとして血液細胞、あるいは血漿が主に用いられる。血液濾紙サンプルでも PNP は測定可能である。検体は測定までの期間、冷凍保存しておく。

4. 測定法

PNP は蛋白分子としての定量測定ではなく、酵素活性を指標として測定される。血液細胞 (赤血球ないし白血球) 溶解液中または血漿中に含まれる PNP の酵素活性を基質である一定量の inosine が単位時間内に hypoxanthine へ転換される比率を測定し、算出する。具体的には¹⁴C でアイソトープラベルされた inosine を使用し、サンプルと混合して一定時間反応後、検体を薄層クロマトグラフィーで展開して inosine と hypoxanthine を定量し、酵素活性を求める方法がある⁹⁾。また、放射性元素を使用しない方法としてサンプルを基質存在下で一定時間反応させた後 HPLC にて分析し、基質と転換産物を検出して定量し、酵素活性を測定する方法も行われている¹⁰⁾。

5. 基準値

測定法の違いや、測定する施設によってそれぞれに正常値が定まる。酵素活性を示す単位としても様々で、nmol/h/mg protein (血漿や血液

細胞)とする単位や, nmol/h/mg Hb(濾紙採血や赤血球)とする単位で結果が示されている。時間単位も分(m)表示とする場合もある。一般にリンパ球では, 赤血球の約2倍のPNP活性を示す¹¹⁾。PNPの欠損を検出するのが主たる目的とすると, 正常者の5%未満をPNP欠損患者とするのが妥当と考えられる。保因者は正常者の約1/2の活性を示す。

6. 臨床的意義(異常値を示す疾患)

PNPを測定する主な意義はPNP欠損症の鑑別診断である。PNP欠損症は, 早期診断, 早期治療によって治癒が期待できる常染色体劣性遺伝の原発性免疫不全症である。複合免疫不全症に分類されているが¹²⁾, T細胞機能の欠損が主体である。これまでに数十例の報告のみで, ADA欠損症に比べても非常にまれな疾患であり, まだ全体像が不透明である¹³⁾。恐らくADA欠損症にみられるように, 変異の種類によって様々な重症度を示す病態が想定される¹⁴⁾。細菌, ヘルペス属を中心としたウイルス, 真菌などに易感染性を示し, 悪性腫瘍も好発する。免疫機構の破綻を背景とする自己溶血性貧血, 特発性血小板減少症, SLEなど自己抗体に起因する自己免疫疾患も約1/3の症例に認める。様々な神経症状を約2/3の症例に呈することも本疾患の大きな特徴であり, 乳幼児期から原因不明の発達遅延, 筋力低下, 痙攣性麻痺, てんかんなどの神経疾患として経過をみられていることもある。

ADA欠損症に比べて早期には免疫不全症状が重篤ではないため, 免疫不全としてではなく上記の神経症状に注目されて診断されない症例が多いことも予想される。次項で述べるように血中, 尿中の尿酸値が極めて低いことが特徴の一つであり, そのような症例に遭遇したときに本疾患が念頭に浮かんでPNPの測定を実施することが診断のカギとなる。神経症状の予後改善のためにも早期診断, 早期治療が望まれる。一方, 血漿のPNPが喘息の患者で正常者より高いとする報告があるが¹⁰⁾, その意義は不明である。

7. 関連検査項目

PNP欠損症ではT細胞を主体とした進行性のリンパ球減少がみられ, PHAやCon Aなどに対するリンパ球芽球化反応低下など, 主にT細胞系の免疫異常を示す。B細胞, 血清免疫グロブリン値は正常のことが多いとされているが, B細胞機能も進行性に低下するようである。抗核抗体などの自己抗体が存在し, X線胸腺陰影は欠如する。生化学的検査では, 血中, 尿中の尿酸が極めて低値であるのが特徴的で, 血中尿酸値は1mg/mL以下である。前述のように赤血球やリンパ球中のPNP酵素活性は著減/欠損し, hypoxanthineの低値, inosineの高値を示す。最終的にはPNP遺伝子の変異を検出することで診断が確定される。

文献

- 1) Ealick SE, et al: J Biol Chem 265: 1812-1820, 1990.
- 2) Toro A, Grunebaum E: J Clin Invest 116: 2717-2726, 2006.
- 3) Giblett ER, et al: Lancet ii: 1067-1069, 1972.
- 4) Giblett ER, et al: Lancet i: 1010-1013, 1975.
- 5) Gandhi V, Balakrishnan K: Semin Oncol 34: S8-S10, 2007.
- 6) Classen CF, et al: Bone Marrow Transplant 28: 93-96, 2001.
- 7) Delicou S, et al: Pediatr Transplant 11: 799-803, 2007.
- 8) Liao P, et al: J Gene Med 10: 1282-1293, 2008.
- 9) Cohen A, et al: J Clin Invest 61: 1405-1409, 1978.
- 10) Yamamoto T, et al: Anal Biochem 227: 135-139, 1995.
- 11) Myers LA, et al: J Pediatr 145: 710-712, 2004.
- 12) Geha RS, et al: J Allergy Clin Immunol 120: 776-794, 2007.
- 13) Markert ML: Immunodeficiency Rev 3: 45-81, 1991.
- 14) 有賀 正: 小児内科 40(増刊号): 1318-1321, 2008.

III
B
酵素関係(アイソザイムを含む)

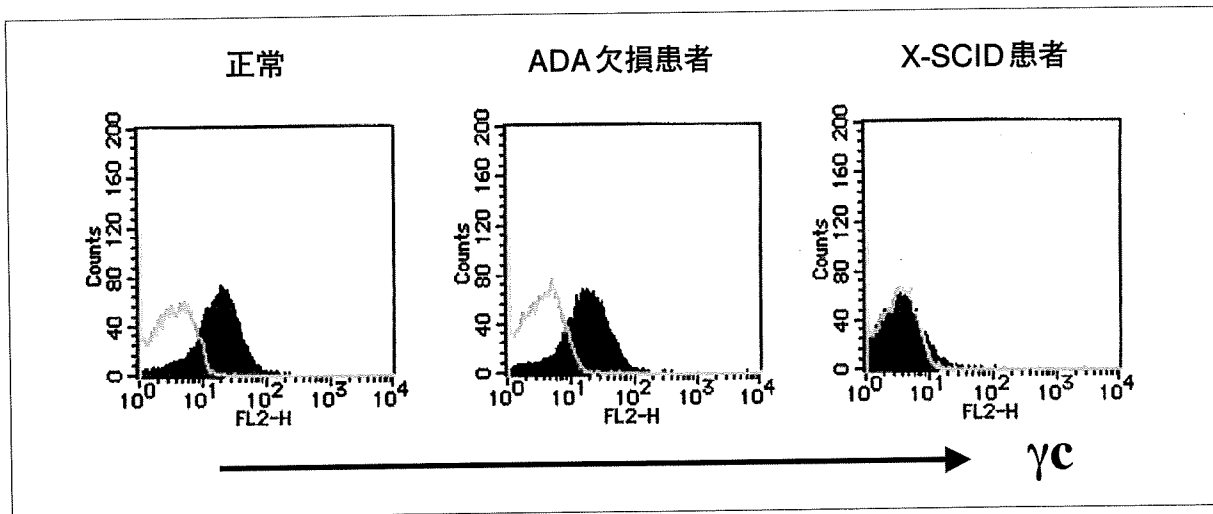


図1. フローサイトメトリーによる γC 発現の解析

末梢血リンパ球細胞表面における γC の発現を検索した。ADA欠損症患者では γC を認めたが、X-SCID患者では認めない。X-SCIDの患者のリンパ球は実際にはB細胞であるが、正常ではこの細胞にも γC は発現している。薄い線がコントロール抗体。塗りつぶした部分が抗 γC 抗体の結果である

病因メカニズム	病型	遺伝子座	T細胞	B細胞	NK細胞	その他
毒性物質による細胞死	ADA欠損症	20q13.11	(-)	(-)	(-)	
遺伝子組み換え/修復異常 (V(D)J組み換え異常)	RAG 1/2欠損症	11q13	(-)	(-)	(+)	紅皮症、肝脾腫など (RAG1/2欠損症の特殊型) 放射線高感受性あり
	Omen病	11q13	(-)	(-)	(+)	
	Artemis欠損	10p	(-)	(-)	(+)	
IL-7シグナルの異常	γC の異常	Xq13	(-)	(+)	(-)	
	JAK3欠損	19p13.1	(-)	(+)	(-)	
	IL-7R α 欠損	5p13	(-)	(+)	(+)	
TCRからのシグナル異常	CD3 δ 欠損	11q23	(-)	(+)	(+)	
	CD3 ϵ 欠損	11q23	(-)	(+)	(+)	
	CD45欠損	1q31-q32	(-)	(+)	(+)	

表1. 重症複合免疫不全症の主な疾患群

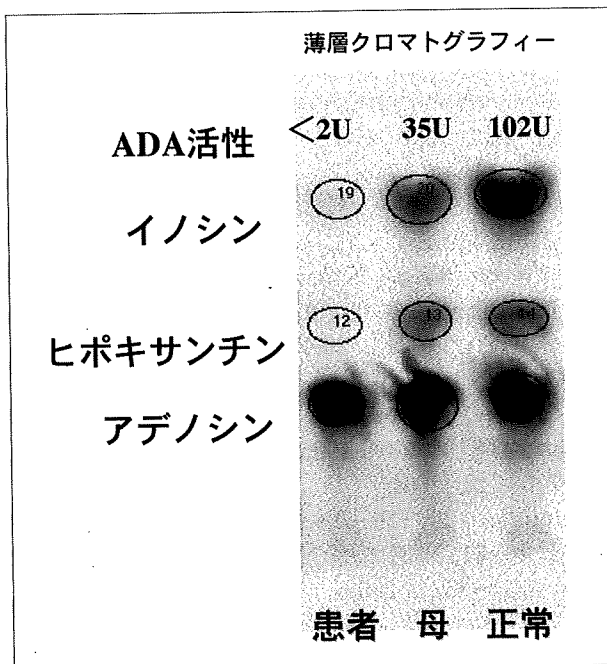


図2. 薄層クロマトグラフィーによる細胞内ADA活性の測定

^{14}C でラベルされたアデノシンが細胞に含まれるアデノシンデアミナーゼ(ADA)によって一定時間内に代謝される(アデノシン \rightarrow イノシン \rightarrow ヒポキサンチン)反応速度から細胞内のADA活性を算出した。ADA欠損患者ではほとんど活性がなく、保因者である母では正常のおよそ半分の活性を示した

症例紹介

発熱と咳嗽が主訴の8カ月男児。家族歴では、母の兄が生後2カ月時に肺炎で死亡していた。生後7カ月頃から長引く咳嗽、発熱を反復し、近医で抗生剤などの処方を受けていた。同様の症状が続くため、8カ月時に総合病院小児科に紹介され、著明な低ガンマグロブリン血症(IgG 7mg/dL, IgA 0mg/dL, IgM 30mg/dL)とリンパ球減少(1,380/mL)を認め、同科に入院となった。胸部X線写真で肺炎像を認め、抗生剤、抗真菌剤で治療したが著効しなかった。末梢血リンパ球の細胞表面マーカー分析で、CD3 0.2%, CD4 1.3%, CD8 0.1%, CD19 98.5%, CD20 98.4%, CD56 0.4%とT細胞・NK細胞の欠損を認めたため、大学病院へ入院となった。B細胞+のSCIDが疑われ、フローサイトメトリーによる γc 鎖の欠損(図1)と、その結果を踏まえた遺伝子検索にてX連鎖SCIDと診断した。

疾患解説

■ 概念

重症複合免疫不全症(SCID)は、先天的に細胞性・液性の両免疫機構に重大な欠陥があり、血液幹細胞移植などの根治治療が緊急に実施されなければ乳児期に死亡する重篤な疾患群である。免疫機構の中心的な役割を演じる免疫担当細胞の発生・分化に必須の多様な遺伝子の変異に起因する。

■ 遺伝学的発症機序

SCIDは臨床像や病因メカニズムの視点から、表1のように整理されている。疾患としては稀であるが、免疫機構明への寄与、初めて遺伝子治療が実施された疾患などとして注目されている。

■ 臨床症状

発生頻度は3~7万人に1人といわれているが、診断されずに死亡している症例も多いことが推測される。あらゆる病原体に対し、易感染性を示す。通常の治療に反応しないような、また重篤な感染症像を示す。一方、生後間もなくより気道症状、消化器症状が遷延し、体重増加不良を主訴とする場合もある。ヘルペスウイルス族、真菌、カリニ肺炎(*pneumocystis jirovecii*)などにも注意を要する。あらゆる生ワクチンは禁忌である。

■ 診断

上記のような症状を呈する乳幼児のリンパ球数に注意す

るだけで、診断に近づく場合が多い。末梢のリンパ球数が1500/ μ L以下は明らかに異常であり、さらにリンパ球のサブセットの検査にてT細胞数の著減を認める。B細胞数、NK細胞数の評価は原因遺伝子の推定に役立つ(表1)。最近、T細胞新生の指標となるTREC(T cell receptor excision circles)の定量的解析が、SCID診断のスクリーニングとして注目されている。最も多いX-SCIDでは、末梢血に欠陥のあるB細胞が残存しており、原因分子である γc の検索(図1)で診断が可能である。ADA欠損症も酵素活性の測定(図2)で診断が可能である。他の疾患の診断は遺伝子解析で行われている。

■ 治療

診断がつき次第、根治的な治療の方針を立てて対処することが重要である。原則として血液幹細胞移植が実施されるが、多くは重症感染症を契機に診断されるので時間的猶予がなく、骨髄バンクからのドナー移植は稀である。移植の際の前処置方法に関しては、不要論を含め、依然論議がある。ADA欠損症、X-SCIDに対しては遺伝子治療が行われ、一定の評価がなされている。特異的な治療としてADA欠損症に対するPEG-ADA酵素補充がある。

■ 予後、合併症

児に移行した母由来のリンパ球によって、GVHD様の症状を呈する場合がある。Omen病では自己の偏った極少数のリンパ球による強いアレルギー類似症状を呈する。根治療法なしの予後は極めて不良。移植が成功すると予後は良いとされるが、免疫グロブリンの補充を余儀なくされる例も多い。移植後の長期予後に関しては十分な評価がない。近年実施されたX-SCIDに対する遺伝子治療で複数例の白血病が発症し、その安全性の再評価が問題になっている。

【参考文献】

- 1) Notarangelo et al.: Primary immunodeficiency diseases: An update from the International Union of Immunological Societies Primary Immunodeficiency Diseases Classification Committee Meeting in Budapest, 2005. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 883-896
- 2) Cavazzana-Calvo M, et al.: Gene therapy for severe combined immunodeficiency: are we there yet? *J Clin Invest* 2007; 117: 1456-1465
- 3) de Saint Basile G et al.: Severe combined immunodeficiency caused by deficiency in either the d or the e subunit of CD3. *J Clin Invest* 2004; 114: 1512-1517
- 4) Buckley RH: The multiple causes of human SCID. *J Clin Invest* 2004; 114: 1409-1411

>トピックス：注目される新しい病態・疾患概念と臨床検査—血液疾患編—(3)◁

自己炎症疾患としての家族性地中海熱

山崎和子*1 山崎崇志*2 増本純也*3
鈴木彩子*4 矢崎正英*5 上松一永*6

Familial Mediterranean Fever as Representative Autoinflammatory Disease

*Kazuko YAMAZAKI*1, Takashi YAMAZAKI*2, Junya MASUMOTO*3,
Ayako SUZUKI*4, Masahide YAZAKI*5 and Kazunaga AGEMATSU*6*

Familial Mediterranean fever (FMF) is the most common of the hereditary periodic fevers. FMF is an autosomal recessive disease that affects populations among non-Ashkenazi Jews, Arabs, Turks, and Armenians. Yet, it is observed worldwide, and approximately 90 FMF patients have been reported in Japan. FMF is caused by mutations in the *MEFV* gene, which encodes the pyrin protein. Pyrin protein is associated with the interleukin (IL)-1-related inflammation cascade and involved in the regulation of apoptosis and inflammation.

The clinical characteristics of FMF attacks are fever, abdominal pain, chest pain, and arthritis as symptoms of serositis. Reactive or secondary AA amyloidosis is the most devastating complication of FMF. As amyloid slowly accumulates in various organs and tissues, organ dysfunction ensues prominently in the kidneys. Colchicine has been used in the treatment of FMF, and has markedly changed the course of the disease.

Although over 80 mutations in the *MEFV* gene have been reported, the majority of cases are caused by four mutations in exon 10: M694V, M694I, V726A, and M680I. The majority of Japanese FMF patients are compound heterozygous for M694I/E148Q. E148Q, which is found in populations of Japanese and Chinese, is considered to be a functional polymorphism. It is intriguing that about 10% of Japanese FMF patients have the L110P mutation in addition to E148Q in the same allele. Allelic frequencies of *MEFV* mutations and polymorphisms in 500 normal Japanese individuals were 0% for M694I and 23% for E148Q, respectively.

In conclusion, FMF is not a rare disease in Japan, and it is necessary to consider FMF when a patient experiences recurrent attacks of fever and serositis.

[Rinsho Byori 57: 371~381, 2009]

Corresponding author: *Kazunaga AGEMATSU*, Department of Infection and Host Defense, Graduate School of Medicine, Shinshu University, Matsumoto 390-8621, Japan. E-mail: agemts_k@shinshu-u.ac.jp

【Key Words】 periodic fever (周期性発熱), autoinflammatory disease (自己炎症疾患), familial Mediterranean fever: FMF (家族性地中海熱), pyrin (パイリン), colchicine (コルヒチン)

*1,6 信州大学医学研究科感染防御学, *3 同 大学医学部病理組織学講座, *2,6 同 大学医学部小児医学講座,
*4,5 同 大学第三内科学講座 (〒390-8621 松本市旭 3-1-1)

免疫疾患の主なものとして、免疫不全症、アレルギー、自己免疫疾患があるが、最近炎症を主体とした疾患群が自己炎症疾患 (autoinflammatory disease) として確立されてきた。自己炎症疾患は、炎症が持続反復する多種多様な疾患群で、感染症、悪性腫瘍、自己免疫疾患などは除外される。炎症を繰り返すものの、病原微生物、悪性細胞、自己抗体、自己反応性 T 細胞は見出されない。日常診療において発熱を繰り返している患者を診ることは少なくないが、鑑別疾患として考えたい疾患群である。自己炎症疾患は、その名称は自己免疫疾患に似ているが、免疫系による自己への攻撃はなく、自然発生的に炎症が起きる疾患群である。数日から数週間持続する発熱を、数週間から数ヶ月の間隔をもって繰り返す、いわゆる周期性発熱を呈するものがあり、遺伝性を認めるものは遺伝性周期性発熱症候群と呼ばれる。この代表が家族性地中海熱 (familial Mediterranean fever: FMF) である。

I. 周辺疾患

遺伝性周期性発熱症候群には FMF 以外に, cryo-

pyrin 関連周期性発熱症候群 (cryopyrin-associated periodic syndrome: CAPS) と呼ばれるものがある。CAPS には、①家族性寒冷自己炎症症候群 (familial cold autoinflammatory syndrome: FCAS)、別名が家族性寒冷蕁麻疹 (familial cold urticaria: FCU)、②Muckle-Wells 症候群 (Muckle-Wells syndrome: MWS)、③慢性乳児神経皮膚関節症候群 (chronic infantile neurologic cutaneous and articular syndrome: CINCA 症候群)、別名が新生児発症多臓器炎症疾患 (neonatal onset multisystem inflammatory disease: NOMID) の 3 疾患が含まれる。さらに、FMF、CAPS 以外に遺伝性周期性発熱症候群に含まれるものには、TNF 受容体関連周期性発熱症候群 (tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: TRAPS)、高 IgD 症候群 (hyper IgD syndrome: HIDS) があり、HIDS はメバロン酸キナーゼ欠損症 (mevalonate kinase deficiency: MKD) に含まれる。これらの遺伝性周期性発熱症候群は発熱の持続期間および発熱発作の間隔に疾患毎の特徴があり、そのパターンからある程度診断を推測できる場合もある (Table 1)。また、臨床症状のみからでは遺伝性・家族性が必ずしも明白でない場

Table 1 遺伝性周期性発熱症候群の比較

疾患名	FMF	CAPS		MKD	TRAPS	
		MWS	CINCA/NOMID			
責任遺伝子	<i>MEFV</i>	<i>CIAS1, NALP12</i>		<i>MVK</i>	<i>TNFRSF1A</i>	
責任蛋白	pyrin	Cryopyrin, NALP12		mevalonate kinase	TNF receptor type I	
遺伝形式	常劣	常優	常優	常劣	常優	
好発年齢	<10 歳 60~70% <20 歳 90%	幼児~	新生児~乳児	<1 歳	2 週~20 歳 (平均 3 歳)	
発熱期間	半日~3 日	不定 (2~3 日)	不定	3~7 日	1~数週間	
発作間隔	2~6 週	不定	不定	4~6 週	数ヶ月	
臨床 症 状	関節炎	あり	あり (関節破壊)	あり (多関節炎)	あり	
	腹痛	多い	稀	あり	多い	
	胸痛	多い	なし	なし	稀	あり
	筋痛	稀	稀	稀	稀	非常に多い
	皮疹	稀 (丹毒様)	非常に多い (蕁麻疹様)	非常に多い (蕁麻疹様)	非常に多い (丹毒様)	あり (丹毒様)
その他	心膜炎, 脾腫 紫斑, 陰囊炎	感音性難聴 結膜炎	感音性難聴 中枢神経症状	頸部リンパ節腫脹 肝脾腫, 頭痛	結膜炎 眼窩周囲浮腫	
検査 所 見	CRP 陽性 (発作時)	CRP 陽性 (持続的)	CRP 陽性 (持続的)	CRP 陽性 (発作時)	CRP 陽性 (発作時)	
	血液 SAA 増加	SAA 著増	SAA 著増	IgD 増加~正常	sTNFR1 値と sTNFR2 値の解離	
	尿			メバロン酸増加		
治療	コルヒチン	IL-1 受容体拮抗薬 (anakinra)	IL-1 受容体拮抗薬 (anakinra)	スタチン (simvastatin)	ステロイド etanercept	

(注) 常劣: 常染色体劣性遺伝, 常優: 常染色体優性遺伝, SAA: 血清アミロイド A, sTNFR: 可溶性 TNF 受容体

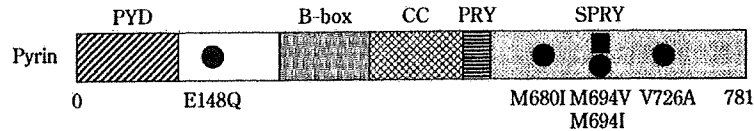


Figure 1 家族性地中海熱の原因遺伝子 *MEFV* のコードする蛋白質である pyrin の構造と変異部位
Pyrin は N 末端側から順に PYD, B-box (Zn フィンガー), coiled-coil (cc) ドメインおよび PRY-SPRY
ドメインをもつ。*MEFV* における 5 つの主要な変異を示した。M680I, M694I, E148Q, V726A を
(●) で示し, 最も症状が重いと言われる変異 M694V を (■) で示した。

合もある。

これらの疾患は小児期に発症するものが多く, 比較的共通すると思われる症状としては繰り返り起こる発熱発作, 関節痛, 腹痛および発疹などがある。また, それぞれの疾患毎に責任遺伝子がほぼ同定されており, 常染色体劣性遺伝 (FMF, MKD など) または常染色体優性遺伝 (CAPS, TRAPS など) を呈する (Table 1)。

II. 家族性地中海熱の病態

A. 家族性地中海熱の原因遺伝子の産物である

pyrin の発見とその変異

1997 年に国際家族性地中海熱研究会 (International FMF Consortium) は, 詳細な連鎖解析によってその遺伝子座を染色体 16p13.3 に絞り込み¹⁾, 責任遺伝子 *MEFV* を同定, その遺伝子産物を pyrin と命名した²⁾。pyrin は C 末端側に PRY-SPRY (B30.2) ドメイン, 中央に B-box (Zn フィンガードメイン) および coiled-coil (cc) ドメインをもつ。pyrin の N 末端側は現在 PYRIN ドメイン (PYD) と呼ばれる (Fig. 1)。FMF 患者において pyrin 変異は多数報告されているが, 最も頻度の高いものは, M694V, M680I, M694I, E148Q, V726A の 5 つである (Fig. 1)³⁾。M694V, M680I, M694I, V726A は *MEFV* の第 10 エクソン, pyrin の PRY-SPRY ドメイン中にあり, E148Q は *MEFV* の第 2 エクソンにある³⁾。その他の変異もほとんどは PRY-SPRY ドメイン中にある³⁾。ユダヤ系の民族では特に M694V の頻度が高く, アミロイドーシスを伴い, 発作も激しいものが多い⁴⁾。本邦では, M694I が多く認められ, E148Q とのヘテロ接合体も認められることが特徴となっている⁵⁾⁶⁾。

B. ASC, cryopyrin, Ipaf の発見

1999 年に血球系の培養細胞や白血球のアポトーシスに伴って奇妙な点状の構造をつくる蛋白質として, caspase recruitment domain (CARD) をもつ apoptosis-

associated speck-like protein containing a CARD (ASC) が共著者の増本によって発見された⁷⁾。この蛋白質は N 末端側に PYD をもち, C 末端側に CARD をもつ (Fig. 2)。CARD はアポトーシスの過程で重要な蛋白質分解酵素であるカスパーゼの N 末端側にも存在する。PYD は CARD, death domain (DD), death effector domain (DED) と同様に, 同種結合ドメインの一つである^{8)~13)}。その後, PYD をもつ蛋白質が次々と発見され, 感染症や炎症などで重要な役割を果たすことが明確となってきた¹⁴⁾。

炎症において中心的な役割を果たしているシグナル伝達複合体を inflammasome と呼ぶが, inflammasome は cryopyrin や Ipaf を中心に構成される。cryopyrin および Ipaf は, アポトーシス誘導経路で重要な apoptotic protease activating factor (Apaf)-1 との相同性から発見され¹⁵⁾, どちらも Nod-like receptor (NLR) と呼ばれるよく似た基本骨格をもつ分子である (Fig. 2)。N 末端側にエフェクター領域としてそれぞれ PYD および CARD をもち, 両者とも中央にヌクレオチド結合性多量体化領域 (NOD), C 末端側にセンサー領域として leucine rich repeats (LRRs) をもつ。cryopyrin や Ipaf は NOD を介してそれぞれ多量体化し, エフェクター領域には ASC が結合し, センサー領域では細胞の老廃物である尿酸や病原体の構成成分を認識する。

アポトーシスのとき働く分解酵素をカスパーゼと呼ぶ。普段はプロドメインと呼ばれる領域が活性化を抑制しているが, プロドメインが切断されるとカスパーゼは活性化状態となる。

1999 年に Apaf-1 と相同の蛋白質として Nod1 が発見された¹⁶⁾¹⁷⁾。その後 Apaf-1/Nod1 相同分子として Nod2 が単離され¹⁸⁾, 炎症性腸疾患である Crohn 病の家系の疾患責任遺伝子 *IBD1* の産物が Nod2 であることが明らかになった¹⁹⁾²⁰⁾。2002 年に Apaf-1/Nod1 との相同性検索から Pypaf1/NALP3 が発見された²¹⁾。

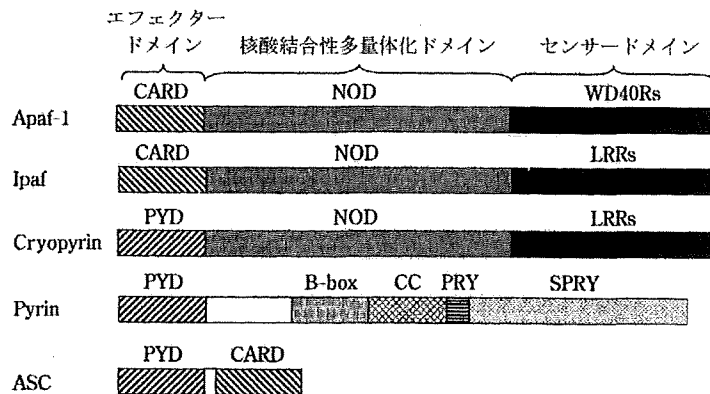


Figure 2 Apaf-1 および inflammasome を構成する cryopyrin, Ipaf, ASC と pyrin の構造

NLR 蛋白質である Apaf-1, cryopyrin, Ipaf は N 末端側にエフェクタードメイン, 中央にヌクレオチド結合性多量体化ドメイン (NOD) をもつ。cryopyrin と Ipaf は C 末端側にリガンドを認識するセンサードメインである leucine rich repeats (LRRs) をもつ。Apaf-1 は C 末端側に WD40 リピート (WD40Rs) をもつ。cryopyrin の N 末端側の PYD は ASC の N 末端側の PYD と相互作用する。Ipaf の N 末端側の CARD は ASC の C 末端側の CARD と相互作用すると同時に, 直接 caspase-1 の CARD とも相互作用する。pyrin は N 末端側に PYD を持ち, ASC の N 末端側の PYD と相互作用する。

それらの発見と同時に, 自己炎症疾患である家族性寒冷自己炎症症候群 (FCAS)/Muckle-Wells syndrome (MWS)/慢性乳児神経皮膚関節症候群 (CINCA 症候群) の連鎖解析から, その責任遺伝子 *CIAS1* が同定され, その遺伝子産物である cryopyrin が Pypaf1/NALP3 と同一分子であることが判明した^{22)~25)}。Pypaf1/NALP3 の報告の前年までに Ipaf をはじめ, 機能不明ながら Apaf-1 や Nod1 と相同の基本骨格をもつ NLR 蛋白質が次々と報告された²⁶⁾²⁷⁾。現在, ヒトにおいて 20 種類ほどが報告されている¹⁵⁾²⁸⁾²⁹⁾。

C. 炎症性サイトカインである IL-1 β 活性化の

舞台となる inflammasome

センサー領域である LRRs を介して, リガンドとして細菌・ウイルスの RNA や尿酸などプリン体を含む化合物等を cryopyrin が認識すると^{30)~33)}, PYD を介して ASC と結合する (Fig. 3)²¹⁾³⁴⁾。また, リガンドとして細菌の鞭毛蛋白質の構成成分である flagellin を Ipaf が認識すると, CARD を介して ASC と結合する (Fig. 3)。cryopyrin と Ipaf はそれぞれ ASC を足場にして多量体化し, inflammasome を形成する。ASC は CARD を介して caspase-1 と結合し³⁵⁾³⁶⁾, inflammasome の形成とともに caspase-1 同士を近接させ, 活性化させる。活性化した caspase-1 は pro-IL-1 β からプロドメインを切断し (プロセッシング), 活性型の IL-1 β が細胞外に遊離される (Fig. 3)^{35)~38)}。

pyrin は PYD を介して ASC と相互作用し, inflammasome の活性化を調節している。caspase-1 を発現せず, IL-1 β を分泌しない HEK293T 細胞では, ASC の多量体化によって NF- κ B の活性化が認められた³⁴⁾³⁹⁾。ASC を含むこれらのシグナル伝達複合体は inflammasome と呼ばれ, 炎症において中心的な役割を果たしている³⁶⁾。

D. Pyrin による inflammasome の制御

FMF の責任遺伝子の産物である pyrin は, cryopyrin がリガンドを認識したときに PYD を介して ASC と競合的に結合することで, inflammasome を直接阻害し, またその下流の caspase-1 の活性に影響を与え, IL-1 β のプロセッシングによる遊離を調節している (Fig. 3)³⁴⁾。N 末端側に CARD をもつ Ipaf は, リガンドを認識すると CARD を介して ASC と結合し, cryopyrin と同様に NF- κ B の活性化と IL-1 β の分泌を促す (Fig. 3)²⁶⁾。HEK293T の実験系では, Ipaf 単独では NF- κ B の活性化は起こらず, ASC と共発現させることによってのみ NF- κ B の活性化がみられた²⁶⁾³⁹⁾。この Ipaf による NF- κ B の活性化も pyrin によって阻害される (Fig. 3)³⁹⁾。また, cryopyrin も Ipaf もヒト単球系の白血病細胞株である THP-1 細胞に発現させ, 強制的に近接させると ASC との結合がみられると同時に IL-1 β の遊離が確認できた³⁴⁾。これらの結果は, pyrin が inflammasome