

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>)

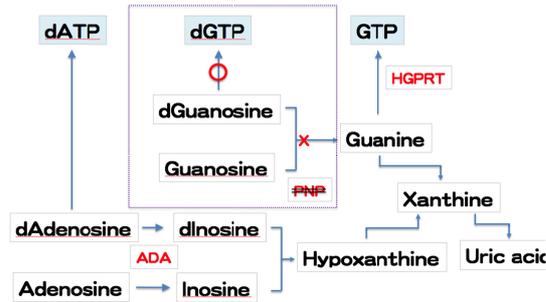
2. PNP 欠損症のスクリーニング法
 - (1) 上記ろ紙血を 4 で測定時まで保存する。
 - (2) ろ紙血からのサンプル調整
 - 1) 1 パンチの乾燥血 (Dried Blood Spot: DBS)
 - 2) 溶質溶媒 5mM AcONH₄ を添加
 - 3) Vortex/ Sonic 30 分 on ice
 - 4) 37 で 30 分間反応
 - 5) アセトニトリル添加
 - 6) 遠心にて上清を回収
 - 7) 乾燥
 - 8) 5mM AcONH₄/ アセトニトリルで 10 倍希釈
 - (3) LC/MS/MS 解析
 - 1) HPLC; Prominence 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

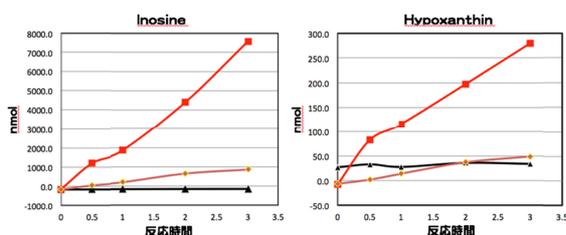
3. 診断ガイドラン

- (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、hypoxanthin 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 Hypoxanthin 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、Hypoxanthin 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 Cytoreductive 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。