

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。

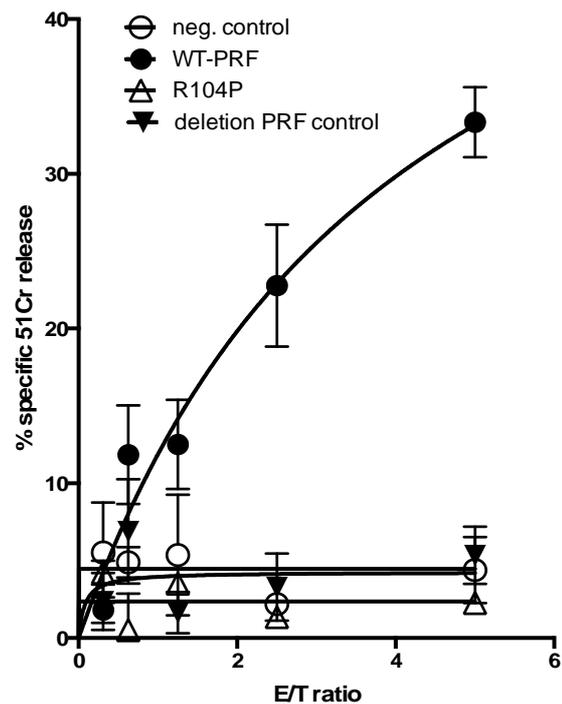


図 1. Killing assay (^{51}Cr release assay)

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, 15;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,