

白血球接着不全症の診断基準

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
 研究協力者 内山 徹 国立成育医療研究センター 成育遺伝研究部

研究要旨

白血球における接着分子の異常によって発症する疾患であり、感染部位への白血球の浸潤が障害され、感染症が反復・遷延する。白血球接着不全症 (leukocyte adhesion deficiency: LAD) は $\beta 2$ インテグリンの発現の異常 (LAD-I : ITGB2 変異) や活性化の障害 (LAD-III : FERMT3 変異)、セレクトインリガンドの糖鎖修飾障害 (LAD-II : SLC35C1 変異) の 3 つに分類される。いずれも常染色体劣性遺伝形式をとり、生後早期からの細菌感染、非化膿性の皮膚感染、臍帯脱落遅延、歯肉炎などを中心とする。LAD-II では精神発達遅滞を、LAD-III では、出血傾向や大理石病などの症状が加わる。

A. 研究目的

炎症や組織損傷部位への白血球の遊走における最初のステップとして、白血球と血管内皮の強力な接着と、血管外への migration がある。白血球接着不全症 (leukocyte adhesion deficiency: LAD) は、接着分子の異常によって発症し、感染部位への白血球の浸潤が障害され、感染症が反復、遷延する。白血球の遊走にはさまざまな分子が関与するが、障害される分子によって白血球接着不全症 (LAD) は主に 3 つに分類される。本研究では、それぞれの病態および重症度に基づいた、LAD の診療ガイドラインの作製を目的とする。

B. 研究方法

1. 原因と病態

白血球の遊走には様々な接着分子が関与する。(表 1)

1) セレクトイン: 血管内皮細胞に発現するセレクトインに白血球表面上のセレクトインリガンドが結合することで血管内面での Rolling が起こる。

2) インテグリン: α 鎖と β 鎖のヘテロダイマーから成り、白血球の血管内皮への接着において重要な役割を果たす。特に、 $\beta 1$ と $\beta 2$ のサブクラスは白血球の炎症部位への migration に主要な役割を果たしている。種々の炎症刺激 (IL-8 などのケモカイン) により、リン酸化された Kindlin3 や Talin がインテグリンタンパクの細胞内ドメインに結合し、活性化する (Inside out pathway) ことで、血管内ヒト接

着し、血管外へ遊走する。

3) immunoglobulin superfamily 分子: 内皮細胞上に発現し、白血球表面上のインテグリンと結合することで、強力な接着分子の形成と血管内皮間を通じた組織内への浸潤を引き起こす。ICAM-1 と ICAM-2 が挙げられる。

Adhesion molecule	expression
インテグリン	
LFA-1 (CD11a/CD18b)	リンパ球
Mac-1 (CD11b/CD18b)	好中球、単球
gp 150/95 (CD11c/CD18b)	好中球、単球
VLA-4	リンパ球、単球、好酸球
免疫グロブリンスーパーファミリー分子	
ICAM-1	内皮細胞、低レベルの恒常的発現
	刺激により発現上昇
ICAM-2	内皮細胞、高レベルの恒常的発現
	刺激による変化なし
VCAM-1	恒常的発現なし
	刺激により発現
セレクトイン	
P-selectin	刺激により血小板と内皮細胞表面に発現
E-selectin	刺激により内皮細胞にのみ発現
L-selectin	好中球、単球と T細胞に恒常的に発現
	Chemoattractantによる刺激により好中球より遊出

表 1 : 接着分子

白血球の血管内から組織への移行には、まず、血管内皮上のセレクトインに、白血球表面のセレクトインリガンド (フコシル化炭水化物) が結合し、このゆるい接着によって rolling が起こる。その後、白血球が活性化し、インテグリンを介して血管内皮上の ICAM-1/2 と協力に接着す

ることで血管外への移行がおこる。

2. 分類と臨床症状

LADは病態により以下の3つに分類される。

1) LAD-I : CD18を含むβ2インテグリンの欠損であり、ITGB2変異が原因である。生後早期より次の症状を呈する¹⁾。

- ・臍帯脱落遅延
- ・反復性の細菌感染症（皮膚と粘膜病変）
- ・白血球高値
- ・創傷治癒遅延
- ・歯肉炎、歯肉周囲炎

2) LAD-II : セレクチンリガンドであるフコシル化炭水化物 (CD15) の欠損による接着障害である。GDP-fucose transporter (SLC35C1) の変異が原因である。感染症状はLAD-Iに比較して軽症であり、生命予後は直結しないとされる。成人における歯肉炎が主な症状となる。一方で、血球系以外の細胞でのフコシル化障害から、精神発達遅延や低身長、特異顔貌、小頭症、けいれん、筋緊張低下を呈する²⁾。

3) LAD-III : βインテグリン (1、2、3) の活性化の障害である。Kindlin-3 (FERMT3) の変異が原因である。LAD-Iと同様に重度の感染症を呈する。重症例では、骨吸収に関わる破骨細胞の接着生害から、大理石病様の症状を呈する。また、血小板凝集不全から、Glanzmann血小板無力症と同様の出血傾向を呈する^{3,4)}。

C. 研究結果

1. 検査所見

- 1) 白血球異常高値
- 2) 食食能の低下

臨床症状に加えて、上記の検査所見を認めた場合に、遺伝子検索を実施する。遺伝子検査の結果に加えて、以下の検査所見を踏まえて確定診断を行う。

- 3) *INTGB3*変異 (LAD-I) : CD11/18の欠損
- 4) *SLC35C1*変異 (LAD-II) : 抗CD15抗体 (ルイスX、シアリルルイスX) での発現の欠損、発達遅滞
- 5) *FERMT3*変異 (LAD-III) : 出血傾向 (血小板粘着検査)

2. 診断とフローチャート (図1)

1) LAD-I

反復性の軟部組織感染と特徴的な検査所見を認めた場合にはPIDを疑い、遺伝子検査を行う。遺伝子検査でITGB2遺伝子に変異を認め、FCMにてCD11/CD18の発現が認められない場合にはLAD-Iとの確定診断を行う。

2) LAD-II

軽度の感染症や白血球増加に加えて、精神発達遅滞を呈する場合にはLAD-IIを疑い、遺伝子検査を行う。GDP-fucose transporter (FU CT1 : *SLC35C1*) に変異を認め、FCMにてセレクチンリガンドであるシアリルルイスX (CD15a) の発現の欠損を認めた場合LAD-IIの診断となる。

3) LAD-III

臍帯脱落遅延などの重症感染、白血球増多に加えて出生時からの出血傾向を認める場合には、LAD-IIIを疑い遺伝子検査を行う。

*FERMT3*遺伝子に変異により診断を行う。

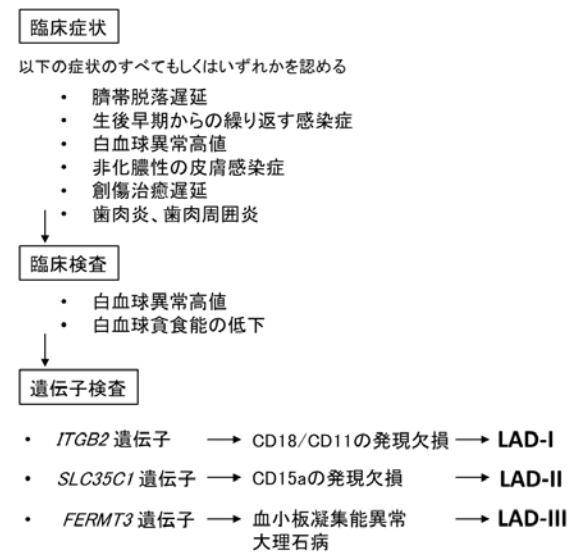


図1：診断フローチャート

3. 重症度分類

LAD-I の場合においては、CD11/CD18 の発現が重症度と直接の相関を持っており、重症、軽症～中等症の二つの臨床像に分けられる。発現が2%以下の場合には、出生後早期からの頻繁な感染症を呈し、生命予後の維持には造血幹細胞移植が必要である^{5,6)}。2-30%の場合には軽症から中等症と考えられ、抗生剤治療などの対症的治療で、成人期までの生存も可能である¹⁾。LAD-II では、LAD-I に比べ、感染症状は軽症の場合が多いとされる。成人期の歯周炎がその主体となる²⁾。LAD-III ではLAD-Iと同様に、重症の反復感染、臍帯脱落遅延、白血球異常高値を示し、また血小板の異常から出血症状を呈する。継続的な感染症、湿疹及び出血傾向などの合併症に対する予防と治療を行う。重症例に対する根治的治療は造血幹細胞であるが^{7,8,9)}、LAD-III では、症状の変動が大きく、移植に先駆けての正確な重症度評価は困難とされる。

4. 治療と予後

1) LAD-I : 重症型の場合には、根治的治療である造血幹細胞が必要であり、実施しない場合には生命予後は不良である^{5,6)}。重症感染を発症する前に移植が行われた場合にはその予後は良好とされる。軽症～中等症の患者では、従来の感染症治療が有効であり、急性期の抗生剤治療により軽快が期待できる。細菌感染に対しては、感受性検査に基づいた抗生剤の全身投与を行う。必要に応じて抗生剤の予防投与を実施する。適切な感染治療によって成人期までの生存は可能である。

2) LAD-II : 感染症に対する抗生剤投与が有効である。感染を頻回に繰り返す患者においては、ST合剤の予防投与を行う。明らかな予後は不明であるが、成人期に移行するにつれて慢性の歯肉炎や感染以外の症状(重度の精神発達遅滞)が顕著になるとされる²⁾。

3) LAD-III : LAD-Iと同様に、根治的治療は造血幹細胞移植であり、幼児期に実施されない場合には生命予後は不良とされる⁷⁾。

D. 考察

これまでサンガー法による遺伝子検査が主流であったため、臨床検査所見やFCMによって遺伝子検査の標的となる遺伝子を絞り込むことが重要と考えられてきた。一方で、現在保険診療によるターゲットリシーケンスにより複数の遺伝子検索が可能になったことなどから、臨床検査所見から好中球の異常が強く疑われた場合には、LADを含む好中球関連の遺伝子検査を早期に実施することが望ましい。一方で、従来のFCMによるCD11/18 (LAD-I) やCD15a (LAD-II) は、遺伝子検査におけるバリエーションの病原性の判断には有用であり、必要に応じて実施する。また、従来のLADの診断において、白血球接着能や遊走能が挙げられているが、これらは検査機関において保険診療として実施されていないということから、診断において必須ではないと考えた。

LAD-IおよびLAD-IIIでは、生後早期から感染症を呈し、造血幹細胞移植を実施しない場合には、2歳までの致死率が75%程度とされている^{5,6,7,8,9)}。LAD-I、LAD-IIIとも全生存率は75%程度であり、重症感染症の発症前の移植では成績が良好である。一方で、移植関連合併症による死亡が20-25%程度報告されていることから、その適応には重症度や合併症を基に十分な検討の上、決定することが望ましい。その他、LAD-IIIでは、Glanzmann血小小板無力症類似の出血傾向を認め、遺伝子組換え活性

型第VII因子製剤の有効性が報告されている⁹⁾。

E. 結論

白血球接着不全症では、3つの病型が存在し、LAD-IおよびLAD-IIIでは、生後早期からの重症感染を呈する。長期の生存には造血幹細胞移植が必要であるが、移植関連合併症の頻度も少なくはなく、患者の症状などを基に十分な検討の上実施する必要がある。LAD-IIでは、生命予後に直結する感染症の頻度は低いものの、慢性の歯肉炎などがQOLの低下を引き起こすことから、ST合剤による感染予防が必要である。診断にあたっては、ターゲットリシーケンスによる複数の標的遺伝子の解析が保険診療により可能になったことから、臨床検査によりLADが疑われた場合には、積極的に遺伝子検査の実施を検討すべきであると考えられる。

参考文献

- 1) Almarza Novoa E, Kasbekar S, Thrasher AJ, et al. Leukocyte adhesion deficiency-I: A comprehensive review of all published cases. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018; 6: 1418-1420.
- 2) Gazit Y, Mory A, Etzioni A, et al. Leukocyte adhesion deficiency type II: Long-term follow-up and review of the literature. *J Clin Immunol* 2010; 30: 308-313.
- 3) Mory A, Feigelson SW, Yarai N, et al. Kindlin-3: a new gene involved in the pathogenesis of LAD-III. *Blood* 2008; 112:2591.
- 4) Schmidt S, Nakchbandi I, Ruppert R, et al. Kindlin-3-mediated signaling from multiple integrin classes is required for osteoclast-mediated bone resorption. *J Cell Biol* 2011; 192: 883-897.
- 5) Qasm W, Cavazzana-Calvo M, Davis EG, et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for leukocyte adhesion deficiency. *Pediatrics* 2009; 123: 836-840.
- 6) Bakhtiar S, Shadur B, Stepensky P. The evidence for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for congenital neutrophil disorder: a comprehensive review by the inborn errors working party group of EBMT. *Front Pediatr* 2019; 7:436. doi: 10.3389/fped.2019.00436
- 7) Stepensky PY, Wolach B, Gavrieli R, et al. Leukocyte adhesion deficiency type III: clinical features and treatment with stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2015; 37:264-268.

- 8) Kuijpers TW, van Bruggen R, Kamerbeek N, et al. Natural history and early diagnosis of LAD-1/variant syndrome. *Blood* 2007; 109: 3529-37.
- 9) Saultier P, Szepetowski S, Canault M, et al. Long-term management of leukocyte adhesion deficiency type III without hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2018; 103: e264-267.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kimura Y, Shofuda T, Higuchi Y, Nagamori I, Oda M, Nakamori M, Onodera M, Kanematsu D, Yamamoto A, Katsuma A, Suemizu H, Nakano T, Kanemura Y, Mochizuki H. Human Genomic Safe Harbors and the Suicide Gene-Based Safeguard System for iPSC-Based Cell Therapy. *Stem Cells Transl Med.* 2019 Mar 19. doi: 10.1002/sctm.18-0039.
- 2) Tsuchida M, Kirino Y, Soejima Y, Onodera M, Arai K, Tamura E, Ishikawa T, Kawai T, Uchiyama T, Nomura S, Kobayashi D, Taguri M, Mitsuhashi T, Takata A, Miyake N, Nakajima H, Miyake S, Matsumoto N. Haploinsufficiency of A20 caused by a novel nonsense variant or entire deletion of TNFAIP3 is clinically distinct from Behçet disease. *Arthritis Res Ther.* 21: 137, 2019 doi: 10.1186/s13075-019-1928-5
- 3) Hosaka S, Kobayashi C, Saito H, Imai-Saito A, Suzuki R, Iwabuchi A, Kato Y, Jimbo T, Watanabe N, Onodera M, Imadome KI, Masumoto K, Nanmoku T, Fukushima T, Kosaki K, Sumazaki R, Takada H. Establishment of immunity against Epstein-Barr virus infection in a patient with CHARGE/complete DiGeorge syndrome after peripheral blood lymphocyte transfusion. *Pediatr Transplant.* 23:e13424. 2019 doi: 10.1111/ptr.13424.
- 4) Tomono T, Hirai Y, Chono H, Mineno J, Ishii A, Onodera M, Tamaoka A, Okada T. Infectivity Assessment of Recombinant Adeno-Associated Virus and Wild-Type Adeno-Associated Virus Exposed to Various Diluents and Environmental Conditions. *Hum Gene Ther Methods.* 30: 137-143, 2019.
- 5) Kikuchi T, Nakae J, Kawano Y, Watanabe N, Onodera M, Itoh H. Foxo in T Cells Regulates Thermogenic Program through Ccr4/Ccl22. *iScience.* 22: 81-96, 2019.

2. 学会発表

- 1) 小野寺雅史 遺伝子治療におけるウイルスベクターの安全性. 第 19 回医薬品ウイルス安全性シンポジウム 東京 H31.2 月
- 2) 小野寺雅史 遺伝子治療の最新の動向と今後の展望 世田谷医師会小児科医会 東京 H31.2 月
- 3) 小野寺雅史 遺伝子治療の現状と今後の展望 埼玉医科大学卒業教育委員会後援学術集会 東京 H31.2 月
- 4) 小野寺雅史 遺伝子治療の概要. 第 122 回日本小児科学会 国際シンポジウム「小児難治性疾患に対する遺伝子細胞治療の現状と新たな挑戦」 金沢 H31.4 月
- 5) Onodera M. Regulation of Gene and Cell Therapy in Japan 第 25 回 日本遺伝子細胞治療学会 東京 2019.7.23
- 6) 小野寺 雅史 医療機関における遺伝子細胞治療用製品への対応 MAB2019 年進捗状況報告会遺伝子治療関係 逗子 2019.9.14
- 7) Ishikawa T, Tamura E, Okai M, Uchiyama T, Onodera M, Ida H, Kawai T: Bacillus Calmette Guerin infection in patients with chronic granulomatous disease. *European Society of Immunodeficiency Disease*, poster, Belgium, 2019/9/20
- 8) 小野寺 雅史 原発性免疫不全症に対する遺伝子治療 第 81 回 日本血液学会学術集会教育講演 東京 R 元 10 月
- 9) Onodera M. How to establish the management system for CAR-T therapy in Japan. JSFA2019 and JSFA2019. Kyoto. R 元 10 月
- 10) Onodera M. What we have learnt from stem cell gene therapy for primary immunodeficiencies. In session 5 (gene therapy) of the 10th ACTO. Sapporo. R 元 11 月
- 11) Onodera M. Where GMP/GCTP starts from in ex vivo gene therapy? In evening seminar of the 10th ACTO. Sapporo. R 元 11 月
- 12) Onodera M. Gene therapy, Past, Present, and Future. Select Bio Cell and Gene therapy Asia 2019. Kobe. R 元 11 月
- 13) Onodera M. Regulations of Gene and Cell Therapy in Japan. International Forum on Regulatory Science for Advanced Therapy Medical Products. Shanghai. R 元 11 月
- 14) 小野寺 雅史 遺伝子治療の現状と今後の展望 九州大学革新的バイオ医薬創成学講義福岡 R 元 11 月

- 15) Onodera M. Points to consider of comparability in viral vectors. 4th DIA cell and gene therapy products symposium in Japan. Tokyo. R 元 12 月
- 16) Onodera M. A good practice for the Cartagena protocol in clinical sides. 4th DIA cell and gene therapy products symposium in Japan. Tokyo. R 元 12 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
特になし。