

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

プリンヌクレオシドホスホリラーゼ欠損症の診断基準及び治療ガイドライン

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
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

プリンヌクレオシドホスホリラーゼ(PNP)欠損症は、常染色体劣性遺伝形式をとる原発性免疫不全症であり、重症複合免疫不全症（severe combined immunodeficiency: SCID）の約4%を占める。PNPが欠損することで細胞内に deoxy-guanosine triphosphate (dGTP)が蓄積しリンパ球に障害をもたらす。乳児期より SCID の症状を呈する患者の他、成人期に発症する患者もおり、また神経症状などの免疫以外の症状も患者毎に異なっている。唯一の根治治療は造血幹細胞移植であり免疫系の再構築による感染症状の消失が期待できる。一方で、神経症状への効果などは不明である。このように本疾患は多彩な症状を呈することから、症状の変化に合わせた適切な治療が必要となる。

A. 研究目的

プリンヌクレオシドホスホリラーゼ(PNP)欠損症は、常染色体劣性遺伝形式をとる原発性免疫不全症であり、重症複合免疫不全症（severe combined immunodeficiency: SCID）の約4%を占める¹⁻³。PNPが欠損することで細胞内に deoxy-guanosine triphosphate (dGTP)が蓄積しリンパ球に障害をもたらす。臨床症状の程度は様々であり、乳児期より典型的な SCID の様相を示す患者の他、年長児から成人にかけて複合免疫不全や自己免疫、好中球減少、pure red cell aplasiaなどで発症する症例も多い。患者は消化器障害や呼吸器障害を伴う感染症を繰り返し、また、運動障害や精神遅滞を伴う神経障害も伴う。2014年の段階で80名の登録があり^{1,4,8}、国内ではこれまで数例のみ報告されるにすぎない⁹。このように、本疾患は患者頻度の低さに加えて、臨床症状も多彩であることから、他の SCID に比べて発見や診断が困難である。このような背景から、本研究では PNP 欠損症に対する適切な診療を目的としたガイドラインの作成を目的とする。

B. 研究方法

1. 原因と病態

PNP はプリン代謝・サルベージ経路に重要な酵素であり、inosine, deoxy inosine から hypoxanthine へ、guanosine, deoxy

guanosine から guanine への変換を触媒する¹⁰。これらの代謝物は、さらに尿酸まで分解されるか、またはヌクレオチドの合成に再利用される。PNPが欠損することで、これらの PNP の基質が毒性代謝産物へと変換される。Deoxyguanosine は deoxyguanosine triphosphate (dGTP)へと変換され、その蓄積はリンパ球の成熟や、T細胞の機能を強く障害する。dGTPによる ribonucleotide reductase の抑制は DNA の合成を阻害し¹¹、また T細胞のミトコンドリアにおける dGTP の蓄積は、ミトコンドリア膜電位の破壊を引き起こし、ミトコンドリア DNA の複製に障害を与える。これらの機序によって、胸腺内のダブルポジティブ (DP) 胸腺細胞に活性化誘導アポトーシスを引き起こす¹²。中枢神経系においては、細胞質内の一定量の GTP 濃度が高分子の合成や神経伝達に重要と考えられており、患者で見られる神経障害は、毒性代謝物の蓄積のほか、GTP の濃度低下が原因と考えられている。PNP の完全欠損（または重度の欠損）症例では、DNA の合成障害から骨髄およびリンパ球の高い放射線感受性を示す¹³。

2. 臨床症状

1) 免疫

遺伝子型と表現型の関係は明確にはなっていないが、残存する酵素量により、臨床症状や発症時期が異なるとされる。酵素活性が欠損

(または重度の低下) する場合には、SCID および CID の病型となり、一方で、酵素活性が残存する変異では、軽症の病型をとる。T 細胞の低下により、日和見感染による反復性の上気道、下気道感染症や、肝膿瘍、リンパ節炎を伴う¹⁻³。また、ワクチンによる播種性 BCG 感染症や水痘の重症化、JC ウイルスによる多発性白質脳症が報告されている⁵。

2) 神経症状

約 2 / 3 の患者で神経症状を発症し、これらは感染症や自己免疫などの免疫系の異常に先行する場合もある¹⁴。神経症状は進行性であり、運動神経障害、脳性麻痺、筋緊張・低下、痙性麻痺、錐体路兆候を伴う不均衡症候群などのほか、知的障害として知能低下、発達遅滞、行動異常が認められることがある。また、脳血管障害や感音性難聴も認める¹⁵。

3) 自己免疫疾患その他

約 1 / 3 の患者で、自己免疫による症状 (溶血性貧血、血小板減少、好中球減少、pure red cell aplasia、甲状腺炎、SLE、脳血管炎、硬化性胆管炎等) を呈する^{1,16}。また EB ウイルスに関連したリンパ増殖症やリンパ腫の発症も報告される¹⁷。

C. 研究結果

1. 検査所見

赤血球や白血球、線維芽細胞における PNP 活性の低下 (<5%) が認められる。また、血漿および尿における尿酸値は低下する^{10,18}。T 細胞 (CD3, CD4, CD8) は減少する一方で、B 細胞 (CD19) は数、機能とも正常である場合が多い。PHA や ConA などのマイトジェンに対する反応は、早期には正常である場合も経過とともに低下する。ガンマグロブリンの値は上昇から低下まで様々である。

2. 重症度分類

残存する酵素活性の違いにより様々な病型をとる。酵素活性が欠損および重度の低下の場合、免疫系では T 細胞の欠損から SCID の病型をとり、また神経症状も重度となる。酵素活性が残存する場合には、その程度により重症度は大きく異なり、リンパ球の軽度の低下から異常がない症例、また神経症状を呈さない症例もある。

3. 診断フローチャート

易感染性や成長障害、神経症状や自己免疫性疾患、尿酸値の低値 (<2mg/dl) より PNP 欠損症を考える。重症例では、重度のリンパ球減少

およびフローサイトメトリーによる T 細胞 (CD3, CD4, CD8) の減少を認める。その他、好中球減少なども認める。遅発型や軽症例では、T 細胞の低下を認めず、TREC 測定では検出できない場合がある¹⁹。タンデムマススペクトロメーター (TMS) による尿中および血清中の purine nucleoside や 2'-deoxy-nucleosides 測定が有用である¹⁰。確定診断は、赤血球や白血球などにおける PNP 酵素活性および PNP 遺伝子解析によって行う。

<診断フローチャート>

1. 易感染性、成長障害より T 細胞不全症 (SCID) を疑う

・リンパ球数、免疫グロブリン値、リンパ球機能解析、フローサイトメトリ、TREC/KREC

2. 神経症状、自己免疫性疾患、血漿・尿中の尿酸値低値より PNP 欠損症を疑う

・TMS による purine nucleoside や 2'-deoxy-nucleosides、PNP 活性の測定

3. PNP 欠損症の確定診断

・PNP 遺伝子解析

4. 鑑別診断

リンパ球系以外の血球系の減少や、代謝性病変を反映し、脳神経障害などが特徴的である。鑑別疾患としては、再生不良性貧血、アデノシン・デアミナーゼ欠損症、その他の SCID、Ataxia-telangiectasia がある。また神経症状が血球系の異常に先行する場合には、無菌性髄膜炎なども候補に挙がる。

5. 治療と予後

1) 治療

アデノシン・デアミナーゼ欠損症とは異なり、酵素補充療法は開発されていない。唯一の根治的治療は造血幹細胞移植であり、免疫系の再構築により感染症の消失が期待できる。移植後の患者における神経症状に関しては不明である。一般的に神経症状に対する有効性はないとされているが、何らかの症状の改善も報告されている^{4,17,20,21}。

その他、支持療法として、血中トラフ値を 800-1000 mg/dL を目標に、ガンマグロブリン補充療法を実施する。また、ニューモシスチス肺炎および真菌感染の予防として Trimethoprim-sulfamethoxazole (ST 合剤)、抗真菌薬の投与を行う。T 細胞の機能不全から、生ワクチンおよび BCG の接種は避ける。

2) 予後

根治的治療である造血幹細胞移植を実施しな

い場合、ウイルス、真菌、細菌感染により10歳までに死亡する症例が多い¹⁾。部分欠損症例に関しては、成人期まで発症しない症例もあり、その予後ははっきりしていない。

D. 考察

PNP 欠損症は発症年齢や臨床症状が多彩であり、その重症度も様々である。ほぼ全ての患者が症状を呈するが、その発症時期は乳児期から7歳までの幅広く、神経症状が感染症の発症に先行する場合もある。年齢とともに自己免疫疾患の頻度も上昇するため、リンパ球の減少以外に、自己免疫疾患や神経症状を合併した場合には本症例の可能性も検討する。多彩な症状から、その診断は容易では無いが、血中および尿における尿酸値の低下は診断の一助になる。

PNP の部分欠損では、late-onset (成人期)の症例もあり、加齢と共に臨床症状が大きく変化することから、症状の変化に合わせたフォローが必要である。また、神経および筋症状に対する理学療法、作業療法なども適宜実施することも推奨される。

典型的な SCID の病型を示す患者は、造血幹細胞移植を実施しない場合、多くの患者が感染症により 10 歳までに死亡する。HLA 一致または一座不一致の造血幹細胞移植が多く、90%以上の患者でドナーT 細胞に入れ替わることがわかっている。また、HLA 一致同胞からの移植では、前処置なしでの移植が行われ、split mixed donor chimerism となった報告があるが、T 細胞はほぼドナータイプとなり、免疫に関する症状は完全に消失している。前処置化学療法に関しては、骨髄破壊的および非破壊的と様々であるが、移植合併症の多くは感染症によるものであり、前処置に起因するものはこれまでのところ報告は少ない。

重症型の病型を呈さない患者においても、加齢に伴い、進行性のリンパ球減少による感染症の頻度の増加や、自己免疫疾患、悪性リンパ腫などのリスクがある。造血幹細胞移植による免疫系の再構築により、これらの改善が期待できる。一方で、酵素活性の部分欠損などの症例では、成人期まで感染症の発症がなかったり、また神経症状を呈さない症例も存在する。そのため、患者の年齢、臨床症状、移植に関連する合併症などを踏まえて、移植の適応を決定する。

E. 結論

PNP欠損症は、典型的なSCIDの様相を示す患者の他、自己免疫や神経症状を呈する患者など多彩な臨床症状見られる。さらに、その発症時

期も乳児期から成人と一定ではなく、他のSCIDに比較して、その診断は容易ではない。リンパ球の減少以外に多彩な臓器症状を認める場合や、尿酸値の低下を示す場合には、本症の可能性も検討する。

参考文献

- 1) Markert ML. Purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Immunodeficiency Rev.* 1991;3(1):45-81.
- 2) Somech R, et al. Purine nucleoside phosphorylase deficiency presenting as severe combined immune deficiency. *Immunol Res.* 2013;56(1):150-154.
- 3) Al-Saud B, et al. A novel mutation in purine nucleoside phosphorylase in a child with normal uric acid levels. *Clin Biochem.* 2009;42(16-17):1725-1727.
- 4) Brodzski N, et al. Novel Genetic Mutations in the First Swedish Patient with Purine Nucleoside Phosphorylase Deficiency and Clinical Outcome After Hematopoietic Stem Cell Transplantation with HLA-Matched Unrelated Donor. *JIMD Rep.* 2015;24:83-89.
- 5) Aytakin C, et al. Purine nucleoside phosphorylase deficiency with fatal course in two sisters. *Eur J Pediatr.* 2010;169(3):311-314
- 6) Parvaneh N, et al. Novel mutations of NP in two patients with purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Clin Biochem.* 2008;41(4-5):350-352.
- 7) Ozkinay F, et al. Purine nucleoside phosphorylase deficiency in a patient with spastic paraplegia and recurrent infections. *J Child Neurol.* 2007;22(6):741-743
- 8) Markert ML, et al. Mutations in purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Hum Mutat.* 1997;9(2):118-121.
- 9) Sasaki Y, et al. Direct evidence of autosomal recessive inheritance of Arg24 to termination codon in purine nucleoside phosphorylase gene in a family with a severe combined immunodeficiency patient. *Hum Genet.* 1998;103(1):81-85.
- 10) la Marca G, et al. Diagnosis of immunodeficiency caused by a purine nucleoside phosphorylase defect by using tandem mass spectrometry on dried blood spots. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;134(1):155-159
- 11) Ullman B, et al. Isolation and characterization of purine-nucleoside

- phosphorylase-deficient T-lymphoma cells and secondary mutants with altered ribonucleotide reductase: genetic model for immunodeficiency disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1979;76(3):1074-1078.
- 12) Papinazath T, et al. Effects of purine nucleoside phosphorylase deficiency on thymocyte development. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(4):854-863 e851
 - 13) Grunebaum E, et al. Partial Purine Nucleoside Phosphorylase Deficiency Helps Determine Minimal Activity Required for Immune and Neurological Development. *Front Immunol*. 2020;11:1257.
 - 14) Dehkordy SF, et al. Primary immunodeficiency diseases associated with neurologic manifestations. *J Clin Immunol*. 2012;32(1):1-24.
 - 15) Tabarki B, et al. Familial spastic paraplegia as the presenting manifestation in patients with purine nucleoside phosphorylase deficiency. *J Child Neurol*. 2003;18(2):140-141.
 - 16) Al-Saud B, et al. A Case with Purine Nucleoside Phosphorylase Deficiency Suffering from Late-Onset Systemic Lupus Erythematosus and Lymphoma. *J Clin Immunol*. 2020;40(6):833-839.
 - 17) Schejter YD, et al. The Broad Clinical Spectrum and Transplant Results of PNP Deficiency. *J Clin Immunol*. 2020;40(1):123-130.
 - 18) Wilcox WD. Abnormal serum uric acid levels in children. *J Pediatr*. 1996;128(6):731-741.
 - 19) Kwan A, et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA*. 2014;312(7):729-738.
 - 20) Delicou S, et al. Successful HLA-identical hematopoietic stem cell transplantation in a patient with purine nucleoside phosphorylase deficiency. *Pediatr Transplant*. 2007;11(7):799-803.
 - 21) Yeates L, et al. Infusion of Sibling Marrow in a Patient with Purine Nucleoside Phosphorylase Deficiency Leads to Split Mixed Donor Chimerism and Normal Immunity. *Front Pediatr*. 2017;5:143.
 - 1) Uchiyama T, Sirirat Takahashi S, Nakabayashi K, Okamura K, Edasawa K, Yamada M, Watanabe N, Mochizuki E, Yasuda T, Miura A, Kato K, Tomizawa D, Otsu M, Ariga T, Onodera M. Nonconditioned ADA-SCID gene therapy reveals ADA requirement in the hematopoietic system and clonal dominance of vector-marked clones. *Molecular Therapy: Methods & Clinical Development* 23: 424, 2021
 - 2) Ishikawa T, Okai M, Mochizuki E, Uchiyama T, Onodera M, Kawai T. Bacillus Calmette-Guerin (BCG) infections at high frequency in both AR-CGD and X-CGD patients following BCG vaccination. *Clin Infect Dis* 73: e2538-e2544, 2021.
 - 3) Ohira M, Kikuchi E, Mizuta S, Yoshida N, Onodera M, Nakanishi M, Okuyama T, Mashima R. Production of therapeutic iduronate-2-sulfatase enzyme with a novel single-stranded RNA virus vector. *Genes Cells* 2021 Sep 4. doi: 10.1111/gtc.12894.
 - 4) Kataura T, Tashiro E, Nishikawa S, Shibahara K, Muraoka Y, Miura M, Sakai S, Katoh N, Totsuka M, Onodera M, Shin-Ya K, Miyamoto K, Sasazawa Y, Hattori N, Saiki S, Imoto M. A chemical genomics-aggrephagy integrated method studying functional analysis of autophagy inducers. *Autophagy* 17:1856-1872, 2021.
 - 5) Ishikawa T, Tamura E, Kasahara M, Uchida H, Higuchi M, Kobayashi H, Shimizu H, Ogawa E, Yotani N, Irie R, Kosaki R, Kosaki K, Uchiyama T, Onodera M, Kawai T. Severe Liver Disorder Following Liver Transplantation in STING-Associated Vasculopathy with Onset in Infancy. *J Clin Immunol*. 41: 967-974, 2021.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 6) Nishizawa H, Matsumoto M, Chen G, Ishii Y, Tada K, Onodera M, Kato H, Muto A, Tanaka K, Igarashi K. Lipid peroxidation and the subsequent cell death transmitting from ferroptotic cells to neighboring cells. *Cell Death Dis* 12: 332. 2021. doi: 10.1038/s41419-021-03613-y.
- 7) Azami Y, Tsuyama N, Abe Y, Sugai-Takahashi M, Kudo KI, Ota A, Sivasundaram K, Muramatsu M, Shigemura T, Sasatani M, Hashimoto Y, Saji S, Kamiya K, Hanamura I, Ikezoe T, Onodera M, Sakai A. Chromosomal translocation t(11;14) and p53 deletion induced by the CRISPR/Cas9 system in normal B cell-derived iPS cells. *Sci Rep* 11: 5216, 2021.
- 8) Uchiyama T, Kawakami S, Masuda H, Yoshida K, Niizeki H, Mochizuki E, Edasawa K, Ishiguro A, Onodera M. A Distinct Feature of T Cell Subpopulations in a Patient with CHARGE Syndrome and Omenn Syndrome. *J Clin Immunol* 41: 233-237, 2021.

2. 学会発表

- 1) 小野寺 雅史 稀少疾患治療薬の開発の課題 第3回 日本免疫不全・自己炎症学会総会 学術集会 東京 令和3年2月
- 2) 小野寺 雅史 原発性免疫不全症に対する新たな診断と治療法の開発 北陸免疫不全症研究会 東京 令和3年3月
- 3) 小野寺 雅史 世界の細胞加工品と遺伝子治療の現状 第4回 DIA 再生医療製品・遺伝子治療用製品シンポジウム 東京 令和2年12月
- 4) 小野寺 雅史 カルタヘナ法第一種使用規程の概要と成育医療研究センターでの取り組み 第42回 日本臨床薬理学会 学術集会 東京 令和3年12月
- 5) Masafumi ONODERA Current State of cell and gene therapy in the world. 第6回 DIA Cell and Gene Therapy

Products Symposium in Japan 東京 令和3年12月

- 6) Masafumi ONODERA A fact-finding survey of handing gene therapy products compliance with type I use regulations of the Cartagena law in clinical site 第6回 DIA Cell and Gene Therapy Products Symposium in Japan 東京 令和3年12月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他