小児の免疫炎症性疾患の早期診断と病態評価に関する研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-05-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 和田, 泰三, Wada, Taizo メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00062396

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.

【研究紹介】

小児の免疫炎症性疾患の早期診断と病態評価に関する研究

和　田　泰　三
金沢大学医薬保健研究域医学系小児科学

Diagnostic approach and pathophysiology of pediatric inflammatory diseases

Taizo Wada

は　じ　め　に

世界の5歳未満の小児の死因は依然として感染症によるものが最も多い．しかし日本を含む先進国では，予防接種や感染症治療の進歩等により肺炎などの単純な感染症で命を落とすことは少なくなっている．このような状況の下，免疫不全症をはじめとした免疫系の異常症がクローズアップされている．実際，原発性免疫不全症 (Primary immunodeficiency, PID) で明らかにされた責任遺伝子の数は右肩上がりで，現在は400遺伝子以上が報告されている．また免疫系に関わる分子の異常が易感染性ではなく，自己炎症や免疫調節障害などを引き起こすことが知られるようになり，最近ではPIDではなく，先天性免疫異常症 (Inborn errors of immunity, IEI) と呼ばれ始めている．これら多様な免疫性疾患を侵襲の少ない形で早期に診断し，適切に治療することが求められている．本稿ではフローサイトメトリーを用いた細胞解析やサイトカインプロファイル解析などを用いて行なっている小児の免疫炎症性疾患の早期診断と病態評価に関する研究を紹介したい．

フローサイトメトリーによる細胞解析

私が入局した1992年の小児科には，既にフローサイトメトリーやセルソーターが設置されていた．その時は気付かなかったものの大変恵まれた環境で，小児の正常発達の過程や特定の疾患で認められる，あるいは逆に失われる細胞亜群の解析がさかんに行われていた[1]．当時，教室ではB細胞欠損を伴う液性免疫不全の代表であるX連鎖無ガンマグロブリン血症の解析が行われ，責任蛋白Btkの細胞内発現を特定の細胞亜群で解析することで迅速診断が可能なことが示されていた[2]．このような細胞解析は，遺伝子解析が身近になっている現在においても，その迅速性や簡便性から臨床的に非常に有用である．最近では，慢性肉芽腫症の責任蛋白NADPHオキシダーゼの複数あるサブユニットを同時に解析する迅速診断系を開発し，全国から多数の解析依頼が寄せられている[3]．

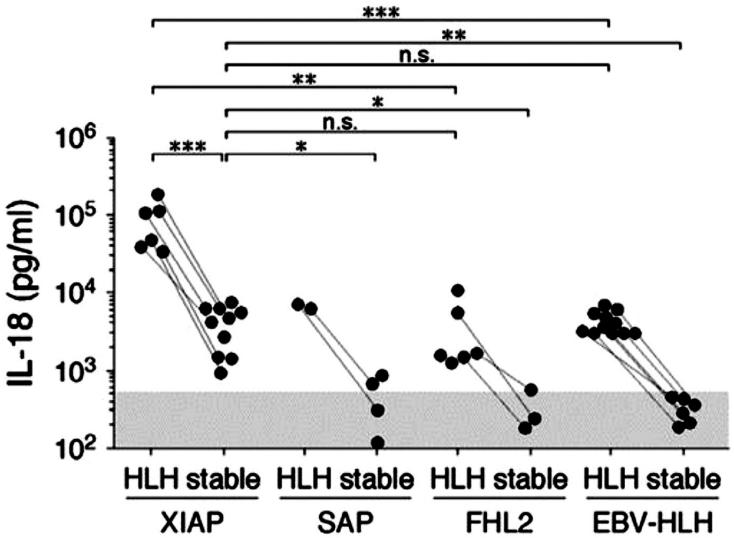
PIDにおいて責任蛋白の解析を続けていると，興味深い現象に出会うことがある．遺伝子変異のreversionによる体細胞モザイクがよい例である．Reversionとは，遺伝子変異が正常の配列に戻るか，もとの変異を代償するような変異が起こることである．通常，reversionは体細胞の一部にしか生じないため，細胞集団を解析すると蛋白発現が回復した細胞と異常なままの細胞とのモザイクとなる場合が多い．米国留学中に，成人になってから易感染性が目立たなくなったWiskott-Aldrich症候群の症例を解析する機会があった．責任蛋白WASpを解析すると，大部分のT細胞でreversionが起こり，WASp発現および機能が回復していた[4]．Revertant細胞が機能を回復し増殖優位性を示す場合には，臨床症状が改善し得ることが明らかとなった．さらに反復配列など変異部位の特定の遺伝子配列の性質がreversionの発生しやすさに強く関与していることが示された．実際，反復配列が関与するDNA splippageにより，同じreversionが複数のWiskott-Aldrich症状群患者に認められた家系を報告している．その後，Omenn症状群，白血球接着異常症1型，重症複合免疫不全症などのPIDにおいてreversionの存在を報告した[5]．近年ではreversionは決して稀な現象ではないと考えられており，特にPIDで臨床症状が非典型的の場合，reversionの有無を疑う必要がある．またreversion症例を解析することで，PIDの原因となっている蛋白の生体内での役割がさらに解明されるものと期待される．最近ではNEMO異常症 (免疫不全を伴う無汗性外胚葉形成異常症) の解析から，NEMOのreversionがCD57を発現したT細胞に濃縮して観察されることを見出しており，NEMO異常症の多彩な炎症病態を解明する手がかりになると考え，解析を進めている．

一方，責任蛋白を発現している細胞ではないものの，疾患に特徴的な細胞亜群を検出できると診断や病勢評価に有用である．小児のEBウイルス関連血球貪食症候群は，EBウイルス初感染に引き続き発症することが多いリンパ増殖性疾患である．その病態は，$CD8^+$ T細胞を中心とした異所性のEBウイルス感染とそのモノクローナルな増殖である．我々は以前より，EBウイルス感染細胞がクローン性に増殖しCD5発現の低下した異常活性化$CD8^+$ T細胞として同定可能であることを報告している[6]．最近，このような異常なフェノタイプを示す細胞亜群が，パーフォリン欠損やMunc13-4欠損による家族性血球貪食症候群の急性期でも検出されることを明らかにした[7]．治療により高サイトカイン血症・全身炎症がコントロールされると，CD5発現の低下した活性化$CD8^+$ T細胞は患者末梢血から消失する．逆に治療にかかわらず致死的な経過を示す症例では減少を認めない．また患者単核球をin vitroで培養するとこの細胞群は容易に細胞死に陥る．おそらくCD5発現の低下した活性化$CD8^+$ T細胞は，全身炎症を引き起こす中心プレーヤーの一つであり，CD5発現低下は真に異常活性化を示すマーカーであることが示唆され，解析を続けている．

サイトカインプロファイル解析

近年，さまざまな疾患におけるサイトカインの役割が明らかにされており，複雑な炎症病態を理解するために，血清などのサイトカインを測定する機会が増えている．個々のサイトカインは，疾患特異性については低いものが多いものの，複数の血清サイトカインのプロファイル解析を行うと疾患の特徴を捉えられる場合がある[8]．血球貪食症候群では，IL-6・ネオプテリン・IL-18といった炎症性サイトカイン全般が高値を示し，川崎病ではIL-6が高値を示すが，IL-18の上昇はみられない場合が多い．原因不明の炎症性疾患である全身型若年性特発性関節炎/成人型Still病では，IL-18が10^4 pg/mLを超えるような異常高値が特徴的である．最近，同様に血清IL-18の異常高値を示すPIDが見出されている．XIAP欠損症（X連鎖リンパ増殖症候群2型）やNLRC4異常症などである[9]．IL-18異常産生にはインフラマソームの異常活性化が関与している可能性があり，XIAP欠損症などの疾患の解析が原因不明の全身型若年性特発性関節炎の病態解明の糸口になると考えている．また，IL-18異常高値で特徴付けられる疾患群が，「IL-18病」という新しい臨床的entityとして認識されていくかもしれない．病態解析を進め，IL-18異常産生をターゲットとした，新たな治療法の開発に繋げたいと考えている．

全身型若年性特発性関節炎ほどではないものの，代表的な自己炎症性疾患である家族性地中海熱でも血清IL-18が高値となる．基本的に家族性地中海熱は臨床的に診断され，遺伝子解析のみによる診断は難しいとされているが，血清IL-18は補助診断として有用である．また，治療後に残存する炎症を評価する際にも有用で，真の寛解を判定するよいマーカーになることを報告している[10]．



図．XIAP欠損症は，血清IL-18の持続的高値が特徴で，繰り返す血球貪食症候群と関連している．他の原因による血球貪食症候群においても血清IL-18は高値となるが，XIAP欠損症ではその異常高値が際立っている．文献9より引用．

お わ り に

次世代シークエンサーによる網羅的解析により次々とPIDの責任遺伝子が見つかっているが，遺伝子解析だけでは病態の解明や治療法の開発には繋がらない．同じ遺伝子の異常でも表現型が異なる場合，機能低下ではなく亢進する場合，いわゆるmodifier geneが関係する場合など多彩な病態が存在する．また逆に異なる疾患に本質的に共通する免疫応答が存在したりする．今後も症例に基づいた基礎的な解析を通して，疾患の本態に近づき，医療・医学の発展に繋げるような研究を展開していきたいと考えている．

謝　　辞

これまで多大な御協力をいただきました諸先生に心より深く感謝いたします．また今回，執筆の機会を与えて下さった金沢大学十全医学会に厚く御礼申し上げます．

参 考 文 献

1）Wada T, Seki H, Konno A, et al. Developmental changes and functional properties of human memory T cell subpopulations defined by CD60 expression. Cell Immunol 187(2): 117-123, 1998

2）Futatani T, Miyawaki T, Tsukada S, 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 91(2): 595-602, 1998

3）Wada T, Muraoka M, Toma T, et al. Rapid detection of intracellular p47phox and p67phox by flow cytometry; useful screening tests for chronic granulomatous disease. J Clin Immunol 33(4): 857-864, 2013

4）Wada T, Schurman SH, Otsu M, et al. Somatic mosaicism in Wiskott–Aldrich syndrome suggests in vivo reversion by a DNA slippage mechanism. Proc Natl Acad Sci U S A 98(15): 8697-8702, 2001

5）Wada T, Candotti F. Somatic mosaicism in primary immune deficiencies. Curr Opin Allergy Clin Immunol 8(6): 510-514, 2008

6）Toga A, Wada T, Sakakibara Y, et al. Clinical significance of cloned expansion and CD5 down-regulation in Epstein-Barr Virus (EBV)-infected CD8+ T lymphocytes in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. J Infect Dis 201(12): 1923-1932, 2010

7）Wada T. Downregulation of CD5 and dysregulated CD8(+) T-cell activation. Pediatr Int 60(9): 776-780, 2018

8）Mizuta M, Shimizu M, Irabu H, et al. Comparison of serum cytokine profiles in macrophage activation syndrome complicating different background rheumatic diseases in children. Rheumatology (Oxford), 2020

9）Wada T, Kanegane H, Ohta K, et al. Sustained elevation of serum interleukin-18 and its association with hemophagocytic lymphohistiocytosis in XIAP deficiency. Cytokine 65(1): 74-78, 2014

10) Wada T, Toma T, Miyazawa H, et al. Longitudinal analysis of serum interleukin-18 in patients with familial Mediterranean fever carrying MEFV mutations in exon 10. Cytokine 104: 143-146, 2018