

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15512

研究課題名(和文) 原発性免疫不全症からみた膠原病関連疾患再発見への挑戦

研究課題名(英文) Discovery of new pathological processes in autoimmune diseases

研究代表者

上阪 等 (KOHSAKA, Hitoshi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：00251554

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：膠原病などの自己免疫疾患は免疫力が強すぎると発症すると考えられてきた。この点で生まれつき免疫力の弱い原発性免疫不全症で発症した症例に、自己免疫疾患が合併し易いことは逆説的現象と考えられてきた。しかし、一つの分子の異常が原因となり、一部の免疫を弱め、他方の免疫を強める現象で説明されてきた。この研究では、膠原病で発症し、後に免疫不全となる現象を予測し、実際にそのような症例を発見した。しかも、遺伝的解析も行い、既知の免疫不全症遺伝子ではない遺伝子異常を明らかにした。新しい膠原病病態の発見であり、かつ異常遺伝子の解析は新たな治療開発にもつながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Autoimmune diseases including rheumatic diseases develop especially when the immune reactions are potent. In this regard, it seems paradoxical that autoimmune diseases are often complicated in the patients with primary immunodeficient diseases. Currently, we understand that abnormality of a single gene is responsible for suppression of immune reactions and also for aberrant hyper activation. We hypothesized that primary immunodeficiency, in turn, can follow the onset of autoimmune diseases. Our extensive investigation has disclosed a few such cases. Following genetic analyses have disclosed gene abnormality which is not known as genes for primary immunodeficient diseases. More intensive analyses should lead to understanding of new pathology and development of new therapeutic approaches.

研究分野：膠原病・リウマチ内科

キーワード：膠原病 原発性免疫不全症

1. 研究開始当初の背景

膠原病などの自己免疫疾患（膠原病関連疾患）の遺伝背景は、主にゲノムワイド関連解析研究（Genome-wide Association Study）で解析されてきた。主要疾患の GWAS 多型解析は終了したものの病態への寄与度が低いものが多く、未だ新治療に結びついていないのが現状である。そのため、今も寄与度の高い遺伝子異常を発見する方法が望まれているところである。

一方で、原発性免疫不全症患者、特に抗体産生障害を主病態とする分類不能型免疫不全症である Transmembrane activator and CAML interactor (TACI) 欠損症、B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family (BAFF)-受容体欠損症、Inducible T-cell COStimulator (ICOS) 欠損症などはしばしば膠原病関連疾患を合併する。我々も本学小児科森尾友宏教授らとその現象を解析してきた。また、マウスでも、T 細胞抗原受容体からの細胞内シグナル伝達に重要な ZAP70 分子の機能低下が関節リウマチや間質性肺炎類似の膠原病関連疾患を惹起する（SKG マウス）。この逆説的現象の起きる機序の詳細は未だ不明であるが、過剰免疫を抑制する制御性 T リンパ球などの機能低下が自己寛容の破綻を招くと考えられている。

臨床に目を転じれば、膠原病関連疾患患者で治療後に感染を繰り返す症例がある。従来は、治療に副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬を使用される為と解釈されてきた。しかし、原病の疾患活動性が落ち着き、副腎皮質ステロイドが減量され、免疫抑制薬を中止できた症例でも、なお血清免疫グロブリン値が低く、また感染を繰り返す症例もあり、必ずしも免疫抑制療法による後天性免疫不全では説明できない。

本研究では、膠原病関連疾患患者もその一部は免疫不全関連遺伝子の異常が原因であると発想し、その仮説を検証しようとする。GWAS では見出されないような稀な遺伝子異常が関わる可能性を探索する。

2. 研究の目的

上記の仮説を検証することをめざし、

1) 関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性筋炎・皮膚筋炎、血管炎症候群、サルコイドーシスなど膠原病関連疾患で副腎皮質ステロイドや免疫抑制薬の使用状況に不釣り合いな免疫不全症候を期待している症例、即ち治療後にこれらを減量ないし中止したにもかかわらず免疫不全症候をきたしている症例をスクリーニングする。

2) 全 exome 解析などによって免疫不全症に関連する遺伝子の異常を発見する。

ことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 免疫不全を伴う膠原病ないし関連疾患症例のスクリーニング

膠原病や血管炎症候群、サルコイドーシスなどの膠原病関連疾患患者のうち、免疫不全症関連遺伝子に異常を伴う可能性の高い症例をスクリーニングする。暫定的基準は、原発性免疫不全症スクリーニング基準を参考にして次の「に加えて、ないし」と設定する。

免疫抑制薬を中止し、プレドニゾロン換算 5mg/日以下の副腎皮質ステロイドで治療している。

1年に2回以上肺炎、蜂窩織炎、敗血症などの感染症に罹患したことがある。

単純ヘルペス脳炎、髄膜炎菌による髄膜炎、EBV や CMV などによるウイルス感染性血球貪食症候群に罹患したことがある。

血清 IgG、IgA、もしくは IgE の低値。

(2) 患者臨床情報と血清、DNA サンプルの収集

当科全入院症例で東京医科歯科大学疾患バイオリソースセンター（BRC）登録を行い、血清や DNA サンプルが保存する。患者の免疫状態、治療状況、繰り返す感染症の経緯などの臨床情報は電子カルテシステムを用いてスクリーニングする。

4. 研究成果

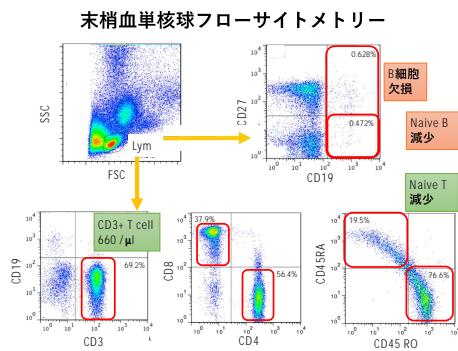
研究方法に記した内容に従って、東京医科歯科大学膠原病・リウマチ内科の症例をスクリーニングして解析を行った。

成果として現状で発表できる次の2例を報告する。

(1) 症例 1

50歳女性。31歳で抗リン脂質抗体症候群を合併する SLE を発症し、中枢神経ループス症などに対してパルス療法を含むステロイド治療、シクロフォスファミド大量間欠静注療法（Intravenous infusion of cyclophosphamide: IVCY）を行い、寛解導入がなされた。38歳で中枢神経ループスを再燃し、再度 IVCY で寛解導入された。その後は治療強度を下げられ、少量ステロイドのみで寛解維持されていた。42歳で左下腿の緑膿菌蜂窩織炎を発症、44歳で緑膿菌による菌血症、B 群連鎖球菌による菌血症を認め、その後も幾度も下腿蜂窩織炎の再燃を認めた（Prevotella やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌）。49歳で化膿性関節炎と左腓腹筋膿瘍に罹患し、腓腹筋の切開排膿術を施行したところ、創部感染を起こした。薬剤に依存しない免疫不全状態と判断し、リンパ球サブセット解析を行なったところ、B

細胞著減、NKT 細胞著減、Th1/17 細胞減少を認めた。次に一部の結果を示す。



表面マーカーで Th1/17 の減少を認めたため、細胞内サイトカインを測定したところ、IFN- γ 産生細胞は減少しているものの、IL-2, IL-4, IL-17 の産生は正常だった。T/B 細胞受容体遺伝子再構成産物 (TREC と KREC) はどちらも陰性だった。両親を含めたトリオ解析で全エクソン解析を行ったところ、de novo で 10 個の遺伝子異常が認められたが、必ずしも本症例の臨床像を説明するものではなく、新たな異常が背景にあると考えられた。

(2) 症例 2

34 歳、女性で、29 歳時に肺炎で入院加療。31 歳時、発熱、肺多発結節影、EBV 血症を認め、症状は自然軽快したがウイルス血症は 2 ヶ月後も遷延した。32 歳時、両側肉芽腫性ぶどう膜炎を発症、発熱、両下腿紅斑も出現した。リンパ球 357/ μ L、IgG 4650 mg/dL、CT 検査で両肺びまん性小粒状影、肝脾腫を認め、心臓超音波検査で心基部から下壁に輝度上昇を認めた。類上皮細胞肉芽腫は証明されなかったが、心サルコイドーシスに準じプレドニゾロン 45 mg、アザチオプリン 100 mg を開始し改善を認めた。治療開始 79 日後、発熱、肺多発結節影、D グルカン 600 pg/mL 以上で入院し、ニューモシチス肺炎、サイトメガロウイルス肺炎、BK ウイルス血症、JC ウイルス血症と診断された。当初からリンパ球減少、グロブリン異常を認め、日和見感染症を重複し、免疫不全症が疑われた。末梢単核球のフローサイトメトリ解析の結果は下図

末梢単核球フローサイトメトリ

| B cell | | | T cell | | |
|---------------|---------|---------------|------------|---------|---------------|
| | 実測値 [%] | 20歳以上の基準値 [%] | | 実測値 [%] | 20歳以上の基準値 [%] |
| CD19+B cell | 2.9 | 12 \pm 4.4 | CD3+T cell | 66 | 68 \pm 5.4 |
| Naive B cell | 34 | 82 \pm 8.2 | Tfh | 1.6 | 7.0 \pm 3.4 |
| Memory B cell | 66 | 19 \pm 8.2 | Tcm | 7.8 | 31 \pm 7.9 |

Tfh:Follicular Helper T cell Tcm:Central Memory T cell
[J Clin Immunol. 2017 Jul;37(5):486-495]

末梢血リンパ球幼若化試験

| Mitogen | 実測値 [cpm] | 基準値 [cpm] |
|---------|-----------|-------------|
| ConA | 630 | 20300-65700 |
| PHA | 363 | 20500-56800 |

免疫グロブリンサブクラス

| | 実測値 [mg/dl] | 成人の基準濃度 [mg/dl] |
|------|-------------|-----------------|
| IgG | 1161 | 1158 \pm 305 |
| IgG2 | 111 | 240 |

[Asian Pac J Allergy Immunol 2009;27:43-48]

の通り。

リンパ球幼若化試験で T 細胞増殖能の低下を認め、T・B 細胞新生能を反映する TREC と KREC が感度以下であり、複合免疫不全症と考えられ全エクソン解析を施行した。この症例でも PID 責任遺伝子の異常は見出されなかった。AID が先行する PID は特徴的なサブタイプの PID と考えられる。

ともに、AID 様病態で発症して、あとになって PID と考えられる病態に至った症例である。今後、遺伝子異常の解析で病態の責任遺伝子を発表する。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

佐藤元彦、木村直樹、田中奈緒、金兼弘和、森尾友宏、上阪等 サルコイドーシス様病態を呈した免疫不全症 第 642 回日本内科学会関東地方会 2018 年 6 月 9 日 東京

田中 奈緒、岡本 圭祐、今井 耕輔、梅澤 夏佳、溝口 史高、森尾 友宏、上阪等 全身性エリテマトーデスで発症した遅発型複合免疫不全症の一例 第 28 回日本リウマチ学会関東支部学術集会 2017 年 12 月 9 日 東京

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

上阪 等 (KOHSAKA, Hitoshi)
東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究
科・教授
研究者番号：00251554

(2)研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者

なし ()

研究者番号：

(4)研究協力者

田中奈緒 (TANAKA, Nao)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・医員
研究者番号：なし

佐藤元彦 (SATO, Motohiko)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・医員
研究者番号：なし