

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：83712

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591535

研究課題名(和文)抗体産生不全症における臨床経過の多様性とその病態解析 新規治療法の基礎的検討

研究課題名(英文)The diversity of clinical course and the pathogenesis in primary antibody deficiency

研究代表者

金子 英雄 (Kaneko, Hideo)

独立行政法人国立病院機構長良医療センター(臨床研究部)・その他部局等・その他

研究者番号：80293554

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：X-linked agammaglobulinemia (XLA)はB細胞分化に必須のチロシンキナーゼBTK遺伝子の異常により発症する。XLA2家系4症例の長期経過について検討した。家系1(L111R変異)の発端者は胸膜炎、骨髄炎などの重篤な深部感染症に罹患した。胸膜炎はヘリコバクター菌による日和見感染であり、エンドトキシンの異常高値が持続した。家系2はスプライスサイトの変異(IVS11+3G>T)であり、エクソン11がスキップする。家系2では易感染は認められていない。十分にIgGが存在していても臨床経過は症例によって異なることを念頭に置いて個々の症例のフォローが必要である。

研究成果の概要(英文)：X-linked agammaglobulinemia (XLA) develops due to mutation of tyrosine kinase BTK gene essential for B-cell differentiation. We examined the long-term course of four cases in 2 XLA family. Family 1 had missense mutations (L111R) in the BTK gene. Proband was suffering from severe infection, such as pleurisy and osteomyelitis. He developed pleurisy as an opportunistic infection by Helicobacter bacteria. The abnormally high level of endotoxin persisted. In family 2 mutation of the splice donor site of the BTK gene (IVS11+3 G>T) caused the skipping of exon 11. Proband (38 years), have not developed serious infections. Cousin of the proband, are enforced at the home once a week gamma globulin subcutaneous injection. The susceptibility to infection is not observed in family 2. The clinical course was variable in any individual case even with enough trough IgG level.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：小児科学

キーワード：抗体産生不全症 XLA BTK ガンマグロブリン補充

1. 研究開始当初の背景

X-linked agammaglobulinemia (XLA)はB細胞分化に必須のチロシンキナーゼ BTK 遺伝子の異常により発症する。伴性劣性の遺伝形式を示す。病因が明らかな抗体産生不全症としては最も頻度が高い。通常、前駆B細胞の段階で分化が停止するため成熟B細胞が全く存在せず、ガンマグロブリンも検出感度以下である。母親からの移行抗体が消失する生後6か月ごろより易感染を呈することが多い。定期的なガンマグロブリン補充により重篤な感染症の予防は可能であるが、長期経過に関しては不明な点が多い。今回、XLA2 家系4症例の長期経過について検討した。

2. 研究の目的

XLA 患者の長期経過に關与する因子をガンマグロブリンの推移、トラフレベル、B細胞数、BTK 遺伝子変異、感染症の重症度の点から検討する。QOLの改善に關与する要因につき検討する。

3. 研究の方法

患者末梢血より比重遠心法にて末梢血単核球細胞を分離し、DNA を抽出した。BTK 遺伝子の各エクソンにプライマーを設定し、PCR法にて増幅後、塩基配列を決定した。

BTK 遺伝子に IVS11+3G T が存在すると MseI site が存在するように人工的にプライマーを設定し、ゲノムDNAよりPCR法により遺伝子を増幅後、MseI で切断した。アガロースゲルに電気泳動し、正常、保因者、患者を区別することができた。

B細胞数はフローサイトメーターでCD19陽性細胞を検出した。

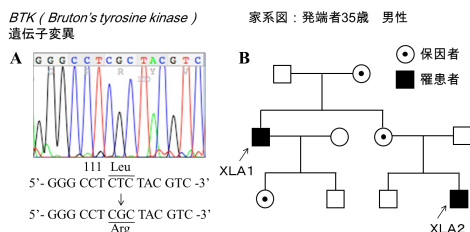
患者の血清のエンドトキシンレベルを経時的に観察した。

4. 研究成果

家系1には二人のXLA患者XLA1(発端者)とXLA2が存在した。家系1のBTK遺伝子変異を示す(図1)。BTK遺伝子のL111Rのミスセンス変異を有していた。

図1

家系1 (XLA1, XLA2) のBTK遺伝子変異

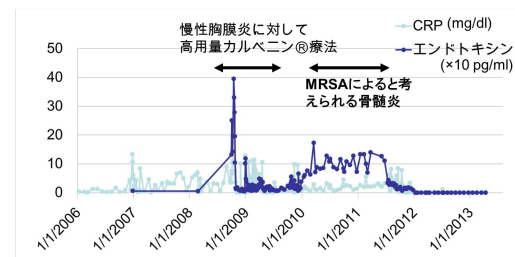


XLA1 は IgG のトラフ値が保たれていても、胸膜炎、下肢の骨髄炎などの重篤な深部感染症に罹患した。胸膜炎は高容量のカルバペネムにより CRP の改善は認められたが、エンド

トキシンの異常高値が持続した。胸膜炎の組織から DNA を抽出、broad-range PCR 法にて細菌のリボゾーム DNA を増幅し、塩基配列を検索したところ、ヘリコバクター菌による日和見感染であることが明らかになった。カルバペネム系の抗生剤により一旦、炎症反応は改善したが、エンドトキシンの異常高値が持続した(図2)。しかし、骨髄炎罹患時の抗 MRSA 薬の投与に伴い、エンドトキシンは正常化した(図3)。

図2

XLA1の臨床経過



高用量のカルペニン療法で患者のQOLは軽快したが高エンドトキシン血症が持続した。

図3 XLA1に合併した左足関節部の骨髄炎



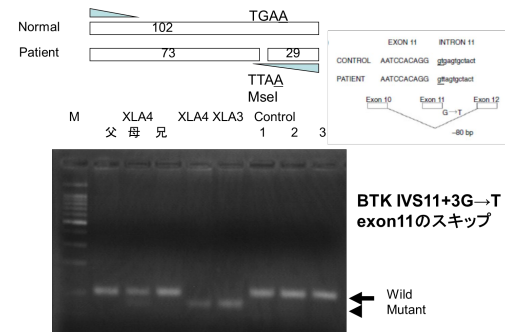
距骨と踵骨、舟状骨の骨髄炎 MRSAによると考えられる骨髄炎の治療後は、CRP、エンドトキシンは正常化した。

おいの(XLA2)は1歳時に血清のIgGは十分に保たれていたが、腸炎関連痙攣に罹患しICUに入院となった。呼吸管理と抗痙攣薬の投与により、後遺症を残さず退院となった。

家系2のBTK遺伝子はスプライドナーサイトの変異(IVS11+3G T)であり、エクソン11がスキップする(図4)。

図4 家系2のBTK遺伝子変異

家系2のBTK遺伝子変異IVS11+3G→T



家系2の発端者(38歳)(XLA3)とそのいとこには、重篤な感染症は発症していない。発端者にはIgM, IgAが血中に認められ、また、正常なBTK遺伝子を発現するリンパ球も存在した。

発端者のいとこ(XLA4)は、ガンマグロブリン皮下注を1週間に1回在宅で施行しているが、易感染は認められていない(図5)。

図5

### 治療と免疫グロブリン値

XLA 3

4週に1回 静注用ガンマグロブリン(12.5g)

約215mg・kg・月 静注している。

	2013/1/22	2/26	4/24	5/28	6/26	7/24	10/2
IgG	617	539	587	563	591	586	522
IgA	122	120	119	119	118	114	104
IgM	18	22	23	16	16	19	18

XLA 4

20%皮下注製剤 ハイゼントラ

約100mg・kg・週 皮下注している。

	2012/2/20	4/9	7/2	12/17	2013/3/11	6/3	8/26
IgG	723	761	735	770	775	715	674
IgA	0	0	0	0	0	1.3	0
IgM	0	1.4	0.9	1.3	0.8	4.6	0.6

XLAの感染予防には、IgGのトラフ値を十分に保つことが重要である。ガンマグロブリンの補充は在宅での皮下注も選択可能になり患者のQOLの向上につながっている。しかし、十分にIgGが存在していても臨床経過は症例によって異なることを念頭に置いて個々の症例をフォローする必要があると考えられた。

#### 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23件)

- 1) Funato M, Uemura O, Ushijima K, Ohnishi H, Orii K, Kato Z, Yamakawa S, Nagai T, Ohara O, Kaneko H, Kondo N. A Complement Factor B Mutation in a Large Kindred with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Clin Immunol.* in press
- 2) Kawamoto N, Fukao T, Kaneko H. (他13名3番目) Total IgE at 6 months predicts remittance or persistence of atopic dermatitis at 14 months. *Allergy Asthma Proc.* 2013; 34(4):362-9.
- 3) Tanaka H, Shimazawa M, Takata M, Kaneko H. (他10名4番目) ITIH4 and Gpx3 are potential biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol.* 2013; 260(7):1782-97.
- 4) Funato M, Kaneko H, Sasai H, Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Kato Z, Kondo N. Peripheral blood stem cell

transplantation in a significant body weight difference between a smaller donor and a larger recipient: A case report. *Transfus Apher Sci.* 2013; 49(3):504-6.

- 5) Kubota K, Ohnishi H, Teramoto T, Matsui E, Murase K, Kanoh H, Kato Z, Kaneko H, Seishima M, Kondo N. In vitro analysis of the functional effects of an NLRP3 G809S variant with the co-existence of MEFV haplotype variants in atypical autoinflammatory syndrome. *J Clin Immunol.* 2013; 33(2):325-34.
- 6) Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kanda K, Ozeki M, Mizuta K, Hirose Y, Kaneko H, Kondo N. Paclitaxel-based chemotherapy for aggressive kaposiform hemangioendothelioma of the temporomastoid region: Case report and review of the literature. *Head Neck.* 2013; 35(8):E258-61.
- 7) Teramoto T, Kaneko H, (他9名8番目) Repeated-dose pharmacokinetics of inhaled ciclesonide (CIC-HFA) in Japanese children with bronchial asthma: a phase I study. *Allergol Int.* 2012; 61(4):619-24.
- 8) Hori T, Ohnishi H, Teramoto T, Tsubouchi K, Naiki T, Hirose Y, Ohara O, Seishima M, Kaneko H, Fukao T, Kondo N. Autosomal-dominant chronic mucocutaneous candidiasis with STAT1-mutation can be complicated with chronic active hepatitis and hypothyroidism. *J Clin Immunol.* 2012; 32(6):1213-20.
- 9) Kawamoto N, Fukao T, Kaneko H, Hirayama K, Sakurai S, Arai T, Kondo M, Kawamoto M, Matsui E, Teramoto T, Kasahara K, Bai C, Zhang G, Omoya K, Matsukuma E, Morimoto M, Suzuki H, Aoki Y, Kimura T, Nada M, Morita H, Tokumi T, Takemura M, Seishima M, Shiraki M, Iwasa S, Kondo N. Risk factors for infantile atopic dermatitis and recurrent wheezing. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 2012; 22(2):116-25.
- 10) Ohnishi H, Kaneko H, (他8名8番目) Characterization of NLRP3 variants in Japanese cryopyrin-associated periodic syndrome patients. *J Clin Immunol.* 2012; 32(2):221-9.
- 11) Ohnishi H, Miyata R, Suzuki T, Nose T, Kubota K, Kato Z, Kaneko H, Kondo N. A rapid screening method to detect autosomal-dominant ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 129(2):578-80.

- 12) Morita H, Kaneko H. (他9名2番目) Structural property of soybean protein P34 and specific IgE response to recombinant P34 in patients with soybean allergy. *Int J Mol Med.* 2012; 29(2):153-8.
- 13) Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kubota K, Ozeki M, Orii K, Kaneko H. Kondo N. Successful treatment of pediatric immune thrombocytopenic purpura associated with ulcerative colitis. *Pediatr Int.* 2011; 53(5):771-3.
- 14) Funato M, Kaneko H. Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Orii K, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Pediatric acute lymphoblastic leukemia mimicking Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Int.* 2011; 53(5):766-8.
- 15) Funato M, Kaneko H. Ohkusu K, Sasai H, Kubota K, Ohnishi H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Refractory chronic pleurisy caused by Helicobacter equorum-like bacterium in a patient with X-linked agammaglobulinemia. *J Clin Microbiol.* 2011; 49(9):3432-5.
- 16) Kaneko H. Fukao T, Kasahara K, Yamada T, Kondo N. Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency. *Mol Med Rep.* 2011; 4(4):607-9.
- 17) An Y, Ohnishi H, Matsui E, Funato M, Kato Z, Teramoto T, Kaneko H. Kimura T, Kubota K, Kasahara K, Kondo N. Genetic variations in MyD88 adaptor-like are associated with atopic dermatitis. *Int J Mol Med.* 2011; 27(6):795-801.
- 18) Morita H, Kaneko H. Ohnishi H, Kato Z, Kondo N. Antigen-specific immune response to endotoxin-free recombinant P34. *Allergy* 2011; 66(7):985-6.
- 19) 金子英雄 免疫不全を伴う特徴的な症候群 毛細血管拡張症、Bloom 症候群  
小児科診療 76 : 413 - 418 : 2013
- 20) 金子英雄 Good 症候群 (免疫不全症を伴う胸腺腫) 別冊日本臨床 血液症候群 (第2版) No.22 300-303:2013
- 21) 金子英雄 ブルーム (Bloom) 症候群 別冊日本臨床 血液症候群 (第2版) No.22 297-299:2013
- 22) 金子英雄 小児食物アレルギーの自然経過と治療 Monthly Book Derma 205: 69-76, 2013
- 23) 金子英雄 食物アレルギーにおける経口免疫療法 小児科診療 5:857-861、2013

〔学会発表〕(計3件)

- 1) 金子英雄、大西秀典、川本典生、寺本貴英、松井永子、加藤善一郎、森田秀行、加藤晴彦、中埜拓、近藤直実：牛乳アレルギーにおける抗原改変 ラクトグロブリン作製と臨床応用の試み。第25回日本アレルギー学会春期臨床大会 2013年5月12日 横浜
- 2) 金子英雄、森田秀行、川本典生、大西秀典、寺本貴英、近藤直実：異なる免疫グロブリンの発現を示した XLA の一家系。第50回日本小児アレルギー学会 2013年10月19日 横浜
- 3) 大西秀典、寺本貴英、川本典生、金子英雄、臼井新治、新井隆広、川尻美和、山岸篤至、加藤善一郎、深尾敏幸、近藤直実：常染色体優性遺伝形式が推測される分類不能型免疫不全症の1家系。第50回日本小児アレルギー学会 2013年10月19日 横浜

〔図書〕(計1件)

- 1) 金子英雄 他、DNA修復障害：248-251；近藤直実、平家俊男編集 自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患。診断と治療社 2012。

〔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1件)

名称：Th2 サイトカイン阻害剤への感受性の検査方法  
発明者：近藤直実、松井永子、金子英雄、青木美奈子、近藤應  
権利者：近藤直実、松井永子、金子英雄、青木美奈子、近藤應  
種類：  
番号：特許第4972737号  
取得年月日：平成24年4月20日  
国内外の別：国内

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者  
金子 英雄 (KANeko, Hideo)  
国立病院機構長良医療センター・臨床研究部・臨床研究部長  
研究者番号：80293554

(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：