

**総説** 特別講演1

## 私たちが原発性免疫不全症から学んできたこと

土屋 滋

東北文化学園大学

**What we have learnt from primary immunodeficiency diseases**

Shigeru Tsuchiya

Tohoku Bunka Gakuen University

**要約**

David は、1971年に生まれた X 連鎖重症複合免疫不全症の少年である。プラスチック製の無菌室で12歳まで生活した。David は、12歳の時に姉をドナーとし HLA ハプロタイプ一致骨髄移植を受けたが、4か月後に移植後合併症でその生涯を閉じた。David 少年のり患した免疫不全症は、その後 X 染色体長腕に遺伝子座のある  $\gamma$ c 鎖が原因遺伝子であることが明らかになった。 $\gamma$ c 鎖は免疫系の分化・成熟に関連する6つのサイトカイン (Interleukin IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15と IL-21) の共通の受容体であることが判明し、X 連鎖重症複合免疫不全症の発症機構はほぼ明らかにされた。その後、遺伝子治療の臨床研究が開始された。しかし、この試みはレトロウイルスベクターによる挿入変異を原因とする白血病の発症により中断され、現在この克服に向けて世界中の研究者が研究を重ねている。他に、Btk 遺伝子の変異による X 連鎖無ガンマグロブリン血症を取り上げ、その発症機序について現在までの知見を述べ、原発性免疫不全症全体の理解の一助としたい。(臨床環境 25 : 55-60, 2016)

《キーワード》 原発性免疫不全症、X連鎖重症複合免疫不全症、X連鎖無ガンマグロブリン血症

**Abstract**

David was born in 1971 with X linked severe combined immunodeficiency disease. He lived in the plastic bubble till the age of 12 years in order to protect him from opportunistic infection. He received a bone marrow transplantation from his HLA haplotype matched elder sister and died from a complication following transplantation after 4 months. David's immunodeficiency disease is caused by a mutation of gamma c chain gene located in the long arm of X chromosome. Gamma c chain is the common component of receptors among IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 and IL-21 and deficiency of these cytokine

受付：平成28年8月10日、採用：平成28年8月13日

別刷請求宛先：土屋 滋

東北文化学園大学

〒981-8550 仙台市青葉区国見六丁目45番1号

signals leads to combined severe immunodeficiency of the lymphoid system. Correction of the immunodeficiency was successfully achieved by ex-vivo gene therapy, however, several adverse events caused by insertional oncogenesis were reported. In addition to X linked severe combined immunodeficiency, the cause of X linked agammaglobulinemia induced by Btk gene mutation was discussed.

(Jpn J Clin Ecol 25 : 55 – 60, 2016)

---

《Key words》 primary immunodeficiency diseases, X-linked severe combined immunodeficiency, X-linked agammaglobulinemia

---

## はじめに

David 少年は、1971年に米国テキサス州 Houston の Texas Children's Hospital で産声を上げたが、20秒後にはプラスチック製の無菌室に収容されていた。David 少年の兄は、7か月の時に X 連鎖重症複合免疫不全症で亡くなっており<sup>1)</sup>、次の男児は50%の確立で患者であることを前提にした上での出産であった。この先天性免疫不全症に罹患した患者は、造血幹細胞移植を受けないと、生後約1年までに感染症で亡くなることがわかっていった。当時はヒト白血球抗原 (HLA : Human Leucocyte Antigen) のバリアを越えた造血幹細胞移植の方法は存在せず、HLA が一致したドナーが見つからない場合には、無菌室に収容する以外に救命法はなかったのである。乳児の David を母親が抱く時、また大きくなって外を散歩する時には、David を宇宙服のような無菌衣に入れて無菌室から出さなければならなかった。無菌環境の維持には、アメリカ航空宇宙局 (NASA : National Aeronautics and Space Administration) で開発された HEPA フィルター (High Efficiency Particulate Air Filter) が決定的に重要な役割を果たした。そのようにして育った David 少年は、12歳になった時に、HLA が半分しか合致していない姉からの骨髄移植を決意した。しかし、T 細胞を除去して移植を行うという新しい技術が新たな移植後合併症を生み、移植後4か月後の時に、今は EB ウイルス (Epstein-Barr virus) 関連 B リンパ球増多症と呼ばれているドナー由来のリンパ球が増殖する悪性リンパ腫様の疾患で亡くなった。

今から30年以上前の話しになるが、私達が全く意識しないで住んでいるこの生活環境は、実は数

えきれないほどの微生物で満たされており、病原性を発揮する微生物からの感染も、本来備わっている免疫の力で防御されていることが多い。その免疫の力に代わるものを人工的な形で導入しようとすると、宇宙旅行並みのコストをかけて、しかも無菌室と言う閉鎖環境の中で、人間的とはとても言えない生活を強いなければならない。いかに私たちが免疫の力によって守られているかを教えてくれるのが、まさに原発性免疫不全症の世界なのである。

## I. 皮膚による感染防御

白血球による感染防御について述べる前に、外界と体内との接点である皮膚の物理的バリア機能の獲得について、考えたい。皮膚は体表外胚葉に由来する表皮と中胚葉由来の真皮からなり、胎生4週頃から発生を開始する。胎生11週には表皮の基底層が出来上がり、その上層の周皮が脱落し、およそ胎生22週までには角質層に置き換わり、成熟した皮膚表皮、真皮の構造となる。出生体重1,000g未滿の超低出生体重児の生存に不可欠な条件は、皮膚が完成していることと、肺胞の膨張に重要なサーファクタントが産生されることがあげられるが、サーファクタントは外から補てんできる時代になり、皮膚成熟の完了、すなわち胎生22週齢以降であることが決定的に重要となっている。ちなみに、超低出生体重児生存例は、米国では21週6日、280g、日本では26週で277gからとなっている。米国小児科学会は、23週以下、400g未滿の新生児は、生存困難と言っている。

## II. 微生物の大きさと感染症成立の概念

微生物は、真核生物 (Eukaryotes、核がある細

胞)、原核生物 (Prokaryotes、核と細胞質が区別なく混在している細胞、主に細菌)、ウイルス (viruses、自身ではタンパク合成系を持たない) に大きく分類されるが、花粉 (20~40 $\mu\text{m}$ ) は真核生物、飛沫感染の飛沫 (5 $\mu\text{m}$  以上) や PM2.5 は原核生物のサイズに相当する。一方、N95マスクの濾過粒子の下限のサイズ0.3 $\mu\text{m}$  は、ウイルスサイズの上限に相当する。

免疫の本論に入る前に、もう一つ確認しておきたいことがある。それは、必ずしもすべての微生物に曝露された宿主が、感染症を発症するわけではないということである。感染は、①病原微生物の存在、②経口感染、空気感染、母子感染と言った感染経路の存在、③宿主の感受性という3つの条件があって初めて成立するということである。このことは、感染症と免疫の関係を考える上でも、常に前提になっていると考えてよい。

### Ⅲ. 原発性免疫不全症の黎明期

原発性免疫不全症が最初に文献上に登場したのは、1950年に発表された Glanzmann と Rinicker による特発性リンパ球消耗症についての記載である<sup>2)</sup>。現在でいう常染色体性劣性重症複合免疫不全症に相当する疾患であり、2年後の1952年に Bruton により報告される X連鎖無ガンマグロブリン血症<sup>3)</sup>と対比させる意味で、Swiss型無ガンマグロブリン血症と呼ばれ、最重症型の致死性免疫不全症である。一方、Brutonにより報告された無ガンマグロブリン血症は、血清タンパクの $\gamma$ グロブリン分画の欠損症であり、 $\gamma$ グロブリン輸注により上・下気道感染の予防が可能であることが、既に論文発表時に示されていた<sup>3)</sup>。しかし、当時はまだ液性免疫、細胞性免疫の担い手が何かが明らかにされる前であり、同じ無ガンマグロブリン血症でも、何故致死性重症型と慢性肺感染症型があるかについての理由は不明であった。1957年には Landing と Shirkey により、好中球の貪食能は正常であるが、殺菌能に異常が存在する慢性肉芽腫症の最初の報告がなされた<sup>4)</sup>。結果として、1950年代に重症複合免疫不全症、無ガンマグロブリン血症、好中球機能の異常による慢性肉芽腫症

という、現在の免疫不全症の基本型が揃ったことになる。David少年のようなX連鎖重症複合免疫不全症の報告は、1963年になってからである<sup>1)</sup>。

一方、1968年になって Kretschmer らによって、DiGeorge症候群として、先天性胸腺無形成の3症例が報告された<sup>5)</sup>。これら症例は、胸腺が存在せず、遅延型過敏反応や、移植片を拒絶するための細胞性免疫が欠損しており、液性免疫は障害されていない。この報告は、胸腺という器官の欠損が、細胞性免疫の障害に結びついていることを初めて明らかにした、免疫学にとっては特筆すべきものであった。当時若き免疫学者 Good は、ニワトリのファブリキウス嚢の摘出実験を繰り返し行い、ファブリキウス嚢の機能を調べていた。しかし、抗体産生器官を摘出し、その効果を遅延型過敏反応や、移植片拒絶で調べるということは、研究の方向性が完全に誤っていたことを示す。それだからこそ、Good は、Kretschmer らの論文が掲載されたあと、直ちに同じ New Engl J Med に、“Experiments of nature in immunobiology” というタイトルでコメントを投稿し、彼らの洞察を讃えたのであった<sup>6)</sup>。

その後 T細胞、B細胞の概念が明確になり、また、1975年に Köhler と Milstein が、細胞融合法による単クローン抗体の作成法を開発したことで、細胞表面抗原の解析が飛躍的に進んだ<sup>7)</sup>。免疫担当細胞や白血病細胞の膜抗原研究に果たした単クローン抗体の役割は、CD (cluster of differentiation) 分類としてまとめられているが、計りしれないほど大きい。

### Ⅳ. Bubble boy 病の原因遺伝子の特定と病態解明

1990年代に入ると、遺伝子クローニングの技法が免疫学にも導入され、1992年には東北大学の菅村らが、マウス $\gamma\text{c}$ 鎖遺伝子のクローニングに成功した<sup>8)</sup>。この遺伝子は、当時 Interleukin (IL) 2受容体 $\gamma$ 鎖と呼ばれ、抗原刺激を受けた T細胞の増殖に不可欠なサイトカイン IL-2の受容体であった。この遺伝子のヒト染色体上の局在、そして疾患との関係がたちどころに突き止められ、X

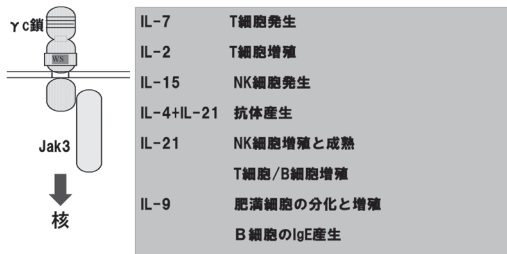


図1  $\gamma$ c鎖-Janus kinase 3 (Jak3) を介したシグナルと X 連鎖重症複合免疫不全症の発症機構の説明

連鎖重症複合免疫不全症の原因遺伝子であることが判明した。先天性免疫不全症の原因遺伝子解明の第一号となった記念すべき研究である。実は、この IL-2 受容体  $\gamma$  鎖は、IL-7、IL-15、IL-4、IL-21、IL-9 と、他に 5 つのサイトカイン受容体の構成成分でもあることが明らかにされ、現在は  $\gamma$ c 鎖 (common  $\gamma$  鎖) と呼ばれている<sup>9)</sup>。このような知見が得られると、図 1 に示すように、IL-7 は T 細胞発生、IL-2 は T 細胞増殖、IL-15 はナチュラル・キラー (NK) 細胞発生、IL-4 と IL-21 は抗体産生、IL-21 は NK 細胞の増殖と成熟、そして IL-9 は肥満細胞の分化と増殖及び B 細胞の免疫グロブリン (Ig) E 産生に重要な機能を持つサイトカインであり、 $\gamma$ c 鎖は、それらの共通の受容体であることが理解される。要するに、X 連鎖重症複合免疫不全症は、 $\gamma$ c 鎖の変異により、複合的に免疫系の分化・成熟に重要なサイトカインのシグナルが核に伝達できず、結果的に重症複合免疫不全症になっていることが明らかにされ、病因がほぼ完全に解明された。Bubble boy が生まれて 20 数年のうちに、医学と免疫学はここまで進化したのである。図 2 に、東北大学医学部免疫学教室石井らが作成した  $\gamma$ c 鎖に対する単クローンで患者末梢血リンパ球を染色し、フローサイトメーターで解析したデータを示す。横軸に CD20 (B 細胞の表面抗原)、縦軸に  $\gamma$ c 鎖の発現強度が対数目盛で示されている。患者では  $\gamma$ c 鎖の発現がないこと (図 2-2)、患者末梢血の陽性細胞は、母親由来の T 細胞が胎盤的に患者に移行し、生着していることを示している (図 2-3)。このような母親由来の T 細胞は、免疫機能を持たない。

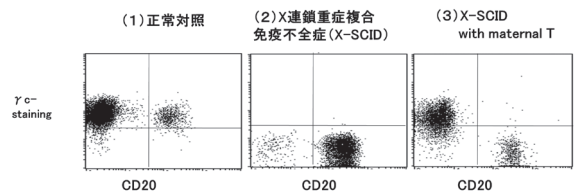


図2 フローサイトメーターによる  $\gamma$ c 鎖の検出。(1) は正常対照、(2) は発症時 X-SCID、(3) は母親由来の T 細胞が生着している X-SCID 症例の発症時末梢血。横軸は CD20 (B 細胞の表面抗原)、縦軸が  $\gamma$ c 鎖のサイグラムである。

Bubble boy 病研究の流れは留まるところを知らない。 $\gamma$ c 鎖の遺伝子クローニングが報告されて 10 年もたたないうちに、レトロウイルスベクターに組み込まれた野生型  $\gamma$ c 鎖による、X 連鎖重症複合免疫不全症の遺伝子治療の報告が Fischer らのグループから報告された<sup>10)</sup>。ところが、人類の未来を拓く画期的な成功のように見えたこの遺伝子治療は、DNA に挿入されたレトロウイルスベクターによる挿入変異を原因とする白血病の発症で新たな壁に突き当たった<sup>11)</sup>。私達東北大学グループは、Fischer との共同研究として我が国への X 連鎖重症複合免疫不全症の遺伝子治療導入を目指し、ほとんど準備が終わっていたので、最初の白血病発症の報告<sup>11)</sup>に接した時の驚愕は、今も忘れることができない。Wiskott-Aldrich 症候群、慢性肉芽腫症の遺伝子治療も、やはり白血病の発症で終了しており、挿入変異の克服が、遺伝子治療の大きな課題となっている。

## V. X 連鎖無ガンマグロブリン血症

ヒトの B 細胞の分化・成熟は骨髄で行われる。X 染色体長腕に局在する Btk 遺伝子の変異は、骨髄での B 細胞の分化・成熟過程を障害し、末梢血には B 細胞が存在しない<sup>12)</sup>。そのため形質細胞への分化が起きず、結果的に抗体産生が行われない免疫不全症である。B 細胞の前駆細胞は骨髄中に存在しており、そのような B 前駆細胞は、EB ウイルスを用いて不死化することが出来る<sup>13)</sup>。また、Bruton's tyrosine kinase (BTK) 蛋白に対する抗体を用いて、細胞内の BTK 蛋白を染色し、フロー

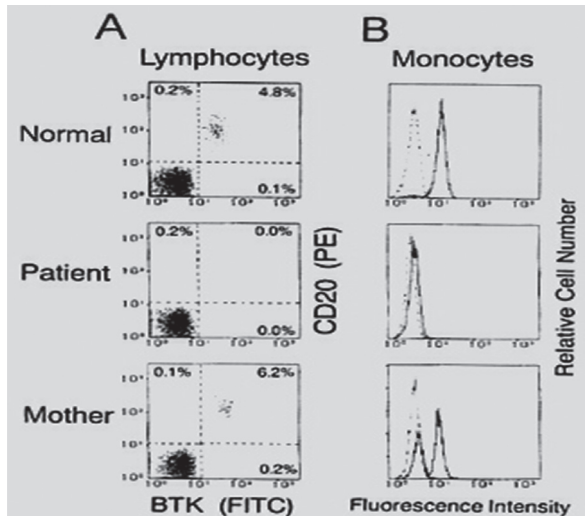


図3 フローサイトメーターによる健常人、患者、保因者である母親のリンパ球領域 (A) と単球領域 (B) における BTK の発現。(A) は、PE-CD20抗体 (縦軸) と FITC-BTK 抗体による二重染色のサイトグラム、(B) は FITC-BTK 抗体によるヒストグラムのパターンを示す。患者では、CD20陽性、BTK 陽性の分画が存在せず、単球にも BTK の発現は認められない。一方、保因者である母親の単球分画では、BTK 陽性と BTK 陰性の分画が二峰性に存在する。ところが、母親の B 細胞では、CD20陽性、BTK 陽性の分画しか存在せず、CD20陽性、BTK 陰性の分画は存在しない。

サイトメーターで染色することが出来る (図3)。主に BTK を発現している白血球は B 細胞と単球である。患者ではもちろん BTK の発現は認められない。この疾患の保因者である母親の末梢血を解析すると、単球では BTK 陽性単球と陰性単球が2峰性に存在しているが、B 細胞では、BTK 陽性のものしか存在せず、BTK 陰性の B 細胞分画は存在しない<sup>14)</sup>。即ち、単球の分化・成熟には BTK の発現の有無は必要ないこと、一方、B 細胞においては、発現している側の X 染色体上の BTK に変異がある場合は、その B 細胞は分化成熟ができずに、末梢血には出現せず、正常に BTK の発現がある B 細胞のみが末梢血には出現する。B 細胞の分化・成熟過程に BTK がいかに重要な役割を示しているかが、理解できると思う。

この疾患は、細胞性免疫は正常に存在するの

で、通常のウイルス感染症の経過は正常であるが、エンテロウイルス族の感染のように治癒に中和抗体を必要とするような感染症の場合には、時に髄膜脳炎を合併する可能性がある。抗体欠損症の場合の重要な留意点である。

## 終わりに

原発性免疫不全症発見の経緯と病因について、X 染色体上に原因遺伝子が局在する 2 つの古典的な免疫不全症を例にとり、説明した。現在 300 種類ぐらい存在するこの疾患群は、自然が私達に提示してくれる、ヒト免疫を理解するための教科書である。患者の存在に関する報告から、原因遺伝子の解明、そして遺伝子治療へ至る必然的な臨床研究の流れを振り返りながら、いつの時代にか、必ずや克服されるであろう遺伝子治療の壁の存在を示した。我が国では、厚生労働省原発性免疫不全症調査研究班と、財団法人かずさ DNA 研究所が連携し、原因遺伝子の同定、発症機序の解明、治療法の標準化、遺伝子治療の臨床研究等に当たっている。この領域の今後のますますの発展を願ひ、本稿を終えたい。

## 文献

1. Gitlin, D., Craig, J. M. The thymus and other lymphoid tissues in congenital agammaglobulinemia. I. Thymic aplasia and lymphocytic hypoplasia and their relation to infection. *Pediatrics* 32: 517-530, 1963.
2. Glanzmann E, Riniker P. Essential lymphocytopenia; new clinical aspect of infant pathology. *Ann Paediatr.* 175: 1-32, 1950.
3. Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics.* 9: 722-728, 1952.
4. Landing BH, Shirkey HS. A syndrome of recurrent infection and infiltration of viscera by pigmented lipid histiocytes. *Pediatrics.* 20: 431-438, 1957.
5. Kretschmer R, Say B, et al. Congenital aplasia of the thymus gland (DiGeorge's syndrome). *N Engl J Med* 279: 1295-301, 1968.
6. Good RA. Experiments of nature in immunobiology. *N Engl J Med* 279: 1344-1345, 1968.
7. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused

- cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 256: 495-497, 1975.
8. Takeshita T, Asao H, et al. Cloning of the gamma chain of the human IL-2 receptor. *Science* 257: 379-382, 1992.
  9. Sugamura K, Asao H. et al. The common gamma-chain for multiple cytokine receptors. *Adv Immunol* 59: 225-77, 1995.
  10. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N Engl J Med* 346: 1185-1193, 2002.
  11. Hacein-Bey-Abina S, Garrigue A et al. Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J Clin Invest* 118: 3132-3142, 2008.
  12. Tsukada S, Saffran DC et al. Deficient expression of a B cell cytoplasmic tyrosine kinase in human X-linked agammaglobulinemia. *Cell* 72: 279-290, 1993.
  13. Tsuchiya S, Sato T et al. Epstein-Barr virus-induced precursor B cell lines from patients with congenital agammaglobulinemia. *Tohoku J Exp Med* 140: 133-144, 1983.
  14. Futatani T, Miyawaki T 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: 595-602, 1998.