

テュートリアル

事例1 (12月 1日・月曜日に提示)

K子さんは医学部の2年生です。高校生と中学生の弟がいて、三人姉弟で育ちました。K子さんと上の弟は生来健康で、ほとんど風邪一つひいたことがありませんが、下の弟は生後間もなくから肺炎や肺膿瘍、中耳炎、化膿性皮膚炎、細菌性の下痢を繰り返し、毎日抗生物質を服用しています。下の弟が生後3ヶ月だった頃、BCGの接種を受け、その後接種場所に湿疹が続いて、半年くらいしてから接種した側の腋の下がウズラの卵くらいの大きさに腫れたことがありました。

父親は男ばかりの三人兄弟で、その全員が健在、母親には独身の妹がいますが、母方の祖母から、二人いた祖母の弟たちが、何れも幼少時に全身に吹き出物のようなものが出来て亡くなったと聞いています。

キーワード例

- ☐ 3人姉弟
- ☐ 上の弟は健康
- ☐ 生後間もなくから
- ☐ 肺炎、中耳炎、皮膚炎、下痢
- ☐ 肺膿瘍
- ☐ 化膿
- ☐ 抗生物質
- ☐ BCG
- ☐ 接種部位の湿疹
- ☐ 腋窩リンパ節の腫脹
- ☐ 家族歴
- ☐ 父親の兄弟は健在
- ☐ 母方の祖母の弟
- ☐ 全身の吹き出物

こんなことを考えてみよう

- ☐ 「風邪」とはどんな病気？風邪の病原体は？
- ☐ K子さん下の弟が罹ってきた病気には、どんな特徴があるのだろうか？
- ☐ 膿瘍って何？
- ☐ BCGとはどのようなワクチン？何を接種するの？
- ☐ 皮膚の湿疹とは？
- ☐ 腋の下が腫れたというのは、何が腫れているのだろうか？
- ☐ 家族歴からどんなことが推測できるか？
- ☐ K子さんの家系図を描いてみよう。

解説

今年のテュートリアルでは、原発性免疫不全症候群の中でも比較的頻度の高い、慢性肉芽腫症(chronic granulomatous disease or chronic granulomatous disorder: CGD)を採り上げます。

CGDは好中球・単球-マクロファージ系細胞、即ちprofessionalな食細胞(phagocytes)系で発現する活性酸素産生酵素系、phagocyte NADPH oxidase complex (phox)の機能異常に起因する遺伝的な免疫不全症であって、乳幼児期から重篤な細菌・真菌感染症を反復し、全身諸組織に肉芽腫を形成する疾患です。

食細胞NADPH oxidaseは、好中球や単球の細胞膜に埋め込まれた二つの膜貫通タンパク質、gp91^{phox}とp22^{phox}、及び細胞質内に存在する四つのタンパク質p67^{phox}、p47^{phox}、p40^{phox}及びRac(Rac1/Rac2)により構成される酵素複合体で、食細胞の活性化に伴って細胞質内の4成分が細胞膜の裏打ちに移動し、二つの膜貫通成分と結合することで活性化型となり、爆発的な代謝活性化(呼吸爆発: respiratory burst)を引き起こします。膜に埋め込まれたgp91^{phox}とp22^{phox}の複合体はチトクロームb₅₅₈と呼ばれ、前者がそのβ鎖、後者がα鎖と定義されています。gp91^{phox}は2分子のヘムを含み、FADを結合することから、この分子がオキシダーゼ活性の中心を担うと考えられています(1-3)。

好中球や単球-マクロファージの代謝活性化を引き起こすシグナルには、講義でも繰り返し触れているPAF、IL-8、ATPなどがあり、これらがG-タンパク共役受容体に結合することによって、細胞膜の裏打ちに結合したホスホリパーゼCβが活性化、イノシトール3リン酸(IP₃)とジアシルグリセロール(DAG)が形成されます。IP₃は小胞体からのCa²⁺放出を促し、放出されたCa²⁺とDAGはPKCを活性化して、細胞質内で3分子複合体を形成しているp47^{phox}、p67^{phox}及びp40^{phox}のp47^{phox}を、数カ所でリン酸化します。リン酸化されたp47^{phox}を含む3分子複合体は細胞膜側に移動し、p47^{phox}がSH3ドメインを介してp22^{phox}の細胞質内部分に結合します。

一方、IP₃により小胞体から放出されたCa²⁺は細胞質内のcytoplasmic PLA₂を活性化、小胞体膜や核膜からアラキドン酸が形成されます。これによってRhoGDIから離れたRacGDPがRacGTPに変換され、立体構造の変わったRacGTPはp67^{phox}に結合、これを引き金にp67^{phox}がNADPHからの電子を、FADを介してgp91^{phox}に伝達できるようになります。gp91^{phox}に伝達された電子は細胞膜の外側、即ちエンドソームの内腔に伝えられ、分子状酸素(O₂)に渡されて、スーパーオキシド(O₂⁻)が形成されます。一方、NADP⁺と共に生じたH⁺は膜のプロトンチャネルを通してエンドソーム内腔に流入し、O₂⁻と反応することで過酸化水素が生じます。こうして生じたH₂O₂は、ミエロペルオキシダーゼの作用で更に次亜塩素酸へと変換され、これらがエンドソームに合流する顆粒内の加水分解酵素と共に、殺菌・分解作用を発揮することになります(4)。

phoxが複数の構成成分から成るタンパク質複合体であるため、その機能異常である慢性肉芽腫症には、複数の遺伝子型が存在することになります。最も多いのはgp91^{phox}をコードする遺伝子であるCYBBの異常で、この遺伝子はXp21.1に存在します(OMIM*306400)。次いでリン酸化を受ける調節タンパク質p47^{phox}をコードするNCF1(neutrophil cytosolic factor 1)の異常が多く、この遺伝子座は7q11.23にマップされます(OMIM*233700)。p67^{phox}(NCF2遺伝子:1q25, OMIM*233710)やp22^{phox}(CYBA:16q24, OMIM*233690)の異常は比較的稀です。CGDの頻度は英国でおよそ出生850万人あたり1例、オランダで25万人あたり1例、我が国で同じく出生25万人あたり1例と推計されており、欧米の統計ではgp91^{phox}の遺伝子異常が65%、p47^{phox}の遺伝子異常が25%、我が国でもgp91^{phox}の遺伝子異常が約75%と報告されています(1, 5)。

CYBB遺伝子はXp21.1に存在しますので、gp91^{phox}の遺伝子異常による慢性肉芽腫症はX染色体連鎖の遺伝形式を取ることになります。gp91^{phox}に認められる遺伝子異常の実体については、既に全世界から1,200以上の症例の解析結果が報告されており、最も多いのはナンセンス変異(全世界で29%、我が国で33%)、スプライス変異(約20%)、或いは欠失/挿入(約25~30%)により、gp91^{phox}タンパク質の発現が検出されないもの(X91⁰)です(1, 5, 6)。

臨床的には、乳幼児期より細菌及び真菌を原因とする化膿性皮膚炎、リンパ節炎、肺炎、中耳炎、肛門周囲膿瘍、肝膿瘍などを認め、消化管の肉芽腫形成が約半数の症例に認められます。この際、ブドウ球菌、クレブシエラ、大腸菌、カンジダ、アスペルギルスなどのH₂O₂非産生カタラーゼ陽性菌が起因菌として分離される一方、連鎖球菌や肺炎球菌など、カタラーゼ陰性菌に対しては抵抗性を保つことが、医師国家試験にも出題されています。

事例にも記述されているBCG (Bacille de Calmette et Guérin: *Mycobacterium bovis*に由来するとされる弱毒生菌ワクチン) 接種後の皮膚湿疹やリンパ節炎は、慢性肉芽腫症患者に特徴的で、BCGitisと呼ばれ、時には全身性の播種性感染 (BCGosis) を起こして上部尿路系などにも感染が拡がり、致命的となることもあります(7)。

慢性肉芽腫症患者の治療としては、ST合剤(サルファ剤であるサルファメソキサゾールSMXとトリメトプリムTMPを5対1の比率で配合した合剤)や抗真菌薬の投与に加え、日常生活で大量の細菌や真菌に曝露されないようにする指導、IFN- γ 投与(多施設共同二重盲検試験で重症感染症の予防に有効とされ、我が国でもおよそ3割の患者で投与されている)などがありますが、現時点では平均寿命は25～30歳で、IFN- γ 投与により30歳を越える症例が出て来るようになってきたのが現状です(5)。

参考文献

- 1) Chronic granulomatous disorder: A guide for medical professions. **CGDSociety** www.cgdsociety.org.
- 2) 梅木 茂宣. 好中球NADPH酸化酵素の活性化メカニズム: 慢性肉芽腫症の分子病態生理と関連して. **蛋白質・核酸・酵素** 39:2284-2295, 1994.
- 3) 長谷部 武、染谷 明正、岩渕 和久、藤田 宏夫、布井 博幸、長岡 功. 慢性肉芽腫症におけるNADPHオキシダーゼ構成成分p67^{phox}の細胞内不安定性と分解酵素について. **Inflammation and Regeneration** 24:47-54, 2004.
- 4) Tom Brock. The NADPH oxidase complex: A superoxide generator. **Cayman Chemical Company**, 2014.
- 5) 布井 博幸、日高 文郎. X連鎖性慢性肉芽腫症(CGD)・常染色体劣性CGD. **原発性免疫不全症候群情報サイト e-免疫.com**.
- 6) Cecile Martel, *et al.* Clinical, functional, and genetic analysis of twenty-four patients with chronic granulomatous disease: Identification of eight novel mutations in *CYYB* and *NCF2* genes. **J. Clin. Immunol.** 32:942-958, 2012.
- 7) Christine Deffert, Julien Cachat, and Karl-Heinz Krause. Phagocyte NADPH oxidase, chronic granulomatous disease and mycobacterial infections. **Cell. Microbiol.** 16:1168-1178, 2014.

事例2（12月 3日・水曜日に提示）

11月になって、インフルエンザワクチンの接種時期が来ました。K子さんは下の弟と一緒に、弟がいつもお世話になっている大学病院の先生のところに行きました。Kさんが医学生だと知ると、主治医の先生は彼女の質問に答え、下の弟の病気について少し詳しく説明してくれました。好中球の数や食食機能は正常だが、NBT還元能が検出できず、ウェスタンブロット検査でも異常が見つかったということです。お母さんの検査でも好中球のNBT還元能が低下していたと聞いて、K子さんはあんなに健康そうな母に検査結果の異常があるとはと驚き、自分のことが心配になりました。

キーワード例

- ☐ インフルエンザ
- ☐ ワクチン
- ☐ 大学病院
- ☐ 主治医
- ☐ 質問に答える
- ☐ 好中球数
- ☐ 好中球食食能
- ☐ NBT還元能
- ☐ お母さんにも検査結果の異常
- ☐ 母親は健康そう

こんなことを考えてみよう

- ☐ 我が国で定期接種・任意接種となっているワクチンにはどのようなものがあるだろうか？
- ☐ インフルエンザワクチンにはどのような成分を含んでいるのだろうか？
- ☐ 健常人末梢血中の好中球数はどのくらいだろうか？
- ☐ 好中球の食食能はどのようにして測定するのだろうか？
- ☐ NBT還元能とは何だろうか？どのようにして測定するのだろうか？
- ☐ ウェスタンブロットとはどのような方法か？
- ☐ K子さんの下の弟では、ウェスタンブロットで一体どのような異常が見つかったのだろうか？
- ☐ お母さんに見つかったNBT還元試験の異常とは、どのようなものだろうか？
- ☐ NBT還元試験に異常があるのに、お母さんが下の弟と違って健康そうなのはどうか？
- ☐ K子さんにも異常がある可能性はあるだろうか？あるとすればその確率は？

解説

先ず、事例1について調べて来たことを討論して下さい。皆さんは、K子さんの下の弟の病態をどのように理解しましたか？また、家系図を描いて、それを理解することが出来たでしょうか？

反復する細菌感染症の存在から、何らかの免疫不全症候群を考えるでしょうが、生後間もなくから細菌性の感染症を反復したことから、免疫グロブリン欠損症は否定的です（何故でしょうか？）。また、下痢は起こしていますが、出血性の膀胱炎やウイルス性脳炎、ニューモシスティス肺炎などの記述は無く、重症複合型免疫不全症候群でもなさそうです。BCGitis

の記述は特徴的で、日常的に抗生物質を服用していることから、細菌に対する防御機構の異常が考えられ、慢性肉芽腫症に到達するのはそれ程困難ではないでしょう。更に、本日の事例2の検査データが揃えば、結論はほぼ明らかです。

この事例はgp91^{phox}の遺伝子異常を考えていますので、その遺伝形式はX染色体連鎖劣性遺伝となります。従って、母親が保因者ですが、そのことは母方の祖母の弟二人が、幼少時に「全身に吹き出物のようなもの」が出来て亡くなった(恐らく、抗生物質が無い当時、皮膚の細菌感染症から敗血症を起こしたと推測される)という記述と合致します。即ち、母親の家系にX染色体上のCYBB遺伝子異常があり、異常のあるX染色体を単独で持った祖母の弟たちが発症し、母方の祖母と母親とはヘテロ接合の保因者であると考えられます。K子さんの上の弟は、母親から正常のX染色体を受け継いでいるのでしょう。

慢性肉芽腫症における好中球機能の異常としては、食細胞NADPHオキシダーゼの機能欠損によるスーパーオキシドの産生異常が診断確定的です。貪食能は通常正常です。好中球の貪食能試験法としては、以前はラテックス粒子を貪食させ光学顕微鏡で観察する方法が行われていましたが、現在では貪食されたラテックス粒子をフローサイトメトリーで定量するのが一般的です。一方、NADPHオキシダーゼ機能の検査には、以前からNBT還元試験が用いられてきました。これは黄色の水溶性色素であるnitroblue tetrazoliumが、NADPHオキシダーゼ存在下で形成されたO₂⁻により還元されて、青色で不溶性のフォルマザンとして析出することを利用したもので、比色定量法として実施することも出来ますが、スメア標本上で個々の好中球についてその活性を見ることも出来ます。また、NBT還元試験に代わる検査法として、非蛍光性のジヒドロローダミン或いは2',7'-ジクロロフルオレセイン・ジアセテートを好中球に取り込ませて、PMA (phorbol myristate acetate: DAGの擬態化によりPKCを活性化する)で刺激し、生成されたローダミンやジクロロフルオレセインの蛍光をフローサイトメトリーで検出する方法も普及しており、定量性があります。

ウェスタンブロット法については、過去の事例でも採り上げていますし、講義でも繰り返し触れていますので、説明の必要は無いでしょう。ここではgp91^{phox}がタンパク質として検出されなかったことを示します。

ところで、事例ではK子さんの母親がヘテロ接合の保因者と考えられますが、女性では全ての体細胞に2本存在するX染色体の一方が、凝縮して性染色質(Barr body)を形成し、遺伝子発現がありません(Lyonization)。X染色体の不活化はランダムに起こりますから、保因者の好中球や単球を調べると、正常なCYBB遺伝子を持つX染色体が不活化し、gp91^{phox}の発現が無い細胞と、異常のあるCYBB遺伝子を持つX染色体が不活化してgp91^{phox}が発現している細胞とが入り交じる様子が観察される筈です。このようなモザイク状態は、三毛猫の体毛のまだらとしても認められるものですが、X染色体連鎖慢性肉芽腫症の保因者でも、NBT還元試験やジヒドロローダミン還元試験でその通り観察されます。このことは、後にK子さんのお母さんの臨床症状と関連して論じられることになります。

事例3（12月 5日・金曜日に提示）

主治医の先生は、K子さんと下の弟にインフルエンザワクチンを接種し、「弟さんは毎年きちんとインフルエンザワクチンを受けること、毎日抗生物質を飲むこと、カビ臭い洞窟や暗い納屋、園芸用の腐葉土やコンポスト、じめじめした温泉場などには出来るだけ近付かないようにすることが大切だよ」と教えてくれました。K子さんは、BCGの予防接種で湿疹が続いてリンパ節が腫れた弟なのに、どうしてインフルエンザの予防接種は大丈夫なのだろうかと頭を巡らせました。そう言えば、下の弟は麻疹・風疹ワクチンや日本脳炎ワクチン、それに小児肺炎球菌ワクチンの接種も受けていたようです。

キーワード例

- ☐ インフルエンザワクチン
- ☐ 抗生物質
- ☐ カビ臭
- ☐ コンポスト
- ☐ じめじめした温泉
- ☐ BCG
- ☐ 湿疹
- ☐ リンパ節腫大
- ☐ 麻疹、風疹
- ☐ 日本脳炎
- ☐ 肺炎球菌ワクチン

こんなことを考えてみよう

- ☐ インフルエンザワクチンの成分はどのようなものか？
- ☐ BCGはどのようなワクチンか？
- ☐ K子さんの弟が近付かない方がよい所は、どのような場所か？何があるのか？
- ☐ K子さんの弟は、ウイルス感染に対する抵抗性を発揮できるのだろうか？
- ☐ 麻疹・風疹ワクチンの成分は何だろうか？
- ☐ 日本脳炎ワクチンはどのようにして作られているのか？
- ☐ 小児肺炎球菌ワクチンはBCGと何が違うのか？
- ☐ 小児肺炎球菌ワクチンの成分は何か？

解説

まず、事例2までの纏めをしっかりと行って下さい。皆さんは慢性肉芽腫症について十分に理解したでしょうか？食細胞NADPHオキシダーゼの構成成分、その活性化機構、各構成タンパク質の遺伝子座、ウェスタンブロット法とNBT還元試験の原理など、ホワイトボードに図を描くなどして確かめて下さい。

インフルエンザワクチンについては、過去の事例でも詳しく扱っていますので、免疫学教室のホームページからリンクしている、過去の事例のページを参照して下さい。現在我が国で接種されている季節性インフルエンザワクチンは、2種類のA型インフルエンザウイルスと1種類のB型インフルエンザウイルスをそれぞれ発育鶏卵の漿尿膜に接種し、得られたウイルス液をエーテル処理して遠心後、ホルマリンで不活化したもの（3価ワクチン）です。発育鶏卵の準備が必要なことから、最新の流行株への迅速な対応が困難であること、鶏卵での

増殖に有利な変異株が選択的に増える可能性があること、抗原の精製度が低く、鶏卵由来の不純物混入の懸念があることなどから、HA遺伝子産物のみを昆虫細胞培養系で発現させた組換えタンパク質ワクチンの導入が検討されており、これまでの3価ワクチンにB型をもう一つ加えた4価ワクチンの導入も目前と言われています。インフルエンザワクチンは不活化ワクチンですから、ワクチン接種によってワクチン株ウイルスの感染が生じる可能性はありません。慢性肉芽腫症患者に季節性インフルエンザワクチンの接種が推奨されるのは、インフルエンザウイルス感染を契機として細菌による混合感染が起こり、細菌性肺炎や肺膿瘍に進展する可能性を抑えるためです。

慢性肉芽腫症の患者は、好中球・単球-マクロファージ系細胞の殺菌能が低下していますが、食食能に異常はなく、樹状細胞による抗原の取り込みと提示や、T細胞の活性化は正常に起こります。従って、ウイルス感染に対する抵抗性は低下していませんし、メモリーT細胞も形成されます。このため、生菌ワクチンであるBCG以外のワクチン接種に問題は無く、むしろ積極的な接種が推奨されます。麻疹・風疹ワクチンは、弱毒麻疹ウイルス株をニワトリ胚培養組織で複製させたものと、弱毒風疹ウイルス株をウサギ腎培養細胞で複製させたものを混合し、凍結乾燥させた生ワクチンです。一方、日本脳炎ワクチンは、日本脳炎ウイルスのワクチン株を培養細胞で複製させ、これをホルマリンで不活化したものです。

小児肺炎球菌感染症は、乳幼児の上気道感染や中耳炎から、時に肺炎、髄膜炎、敗血症に進展し、重篤化する可能性があるもので、原発性免疫不全症候群では、むしろ無または低ガンマグロブリン血症の症例で重要な起因菌となります(何故でしょうか?)。ワクチンは、90以上ある肺炎球菌の血清型のうち、重症感染症の患者から分離される頻度の高い4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23Fの七つの型の莢膜を精製し、キャリアタンパク質と結合させたもので、世界100カ国以上で接種されて、小児の重症肺炎を激減させる効果を挙げています。BCGが弱毒生菌ワクチンであるのに対し、小児肺炎球菌ワクチンは菌体の莢膜を抗原として用いた一種のサブユニットワクチンですから、慢性肉芽腫症の患者に接種しても、感染が広がる心配はありません。

BCG以外のワクチン接種と共に、慢性肉芽腫症の患者には、日常生活上の注意点として高濃度の細菌・真菌への曝露を避けることが指導されます。欧米では納屋や干し草がよく挙げられますが、コンポストも必ず触れられます。また、温泉のヌメリなどもバイオフィームそのものです。バイオフィームはしばしば耐性菌の巣窟であり、食細胞の殺菌能を欠く慢性肉芽腫症の患者は、抗生物質が効かない細菌や真菌を排除する術を殆ど持たない訳ですので、感染の機会そのものを出来るだけ減らすことが極めて重要です。

週末になりますので、皆さんは細菌感染に対する防御機構とウイルス感染に対する防御機構の違い、弱毒生ワクチンと不活化ワクチンの違い、サブユニットワクチンの原理などをゆっくり考えて下さい。

事例4（12月 8日・月曜日に提示）

高校受験が近付いて来た下の弟は、毎日塾に通うようになり、忙しさに紛れて抗生物質を飲むのを忘れていたようです。2週間前から38℃台の発熱と全身倦怠が続き、近くの医院で血液検査をしたところ血沈が亢進しCRPが10mg/dlを超えているということで、すぐに大学病院に入院となりました。胸部のX線検査では異常はありませんでしたが、腹部のCT検査で肝臓に複数の低吸収性の腫瘤性病変が見られ、抗生物質の投与を受けました。腫瘤内容物穿刺検体のPCR検査で黄色ブドウ球菌が検出されたということです。その後も長期間抗生物質の投与が続きましたが、肝門部に近い腫瘤は消失せず、針生検を実施したところ、黄色ブドウ球菌は検出されなくなっていたが、高度のリンパ球浸潤を伴う肉芽腫があるとの診断でした。

キーワード例

- ☐ 高校受験
- ☐ 塾通い
- ☐ 抗生物質
- ☐ 発熱
- ☐ 全身倦怠
- ☐ 血沈
- ☐ CRP
- ☐ 入院
- ☐ 胸部X線検査
- ☐ 腹部CT
- ☐ 肝内の低吸収性腫瘤性病変
- ☐ 穿刺
- ☐ PCR
- ☐ 黄色ブドウ球菌
- ☐ 肝門部
- ☐ 針生検
- ☐ 肉芽腫

こんなことを考えてみよう

- ☐ 発熱はどのようにして起こるのか？
- ☐ 赤血球沈降速度で何がわかるのか？
- ☐ CRPとは何か？その機能は？血液中の濃度が上がるのは何を示しているのか？
- ☐ 肝臓の「腫瘤性病変」は何だろうか？
- ☐ 肝臓の病変と発熱やCRP上昇との関係は？
- ☐ 黄色ブドウ球菌とは、どのような細菌だろうか？
- ☐ 肝臓から黄色ブドウ球菌が検出されると言うのはどういうこと？
- ☐ PCRとはどのような方法？
- ☐ 黄色ブドウ球菌が検出されなくなっても腫瘤が残ったのは何故だろうか？
- ☐ 肉芽腫って何？

解説

K子さんの弟は、多発性肝膿瘍を発症してしまいました。一般に成人の肝膿瘍は胆石や胆道系悪性腫瘍を背景に、上行性感染によって生じるものが多く、起因菌は大腸菌や嫌気性菌が多いのですが、小児の肝膿瘍は稀で、その40%以上は慢性肉芽腫症を背景に持つと言われます。慢性肉芽腫症患者での肝膿瘍合併頻度は15~50%程度で、成人の場合と異なり、起因菌は半数以上が黄色ブドウ球菌とされています。膿瘍が単発性の場合には外科手術の適応となりますが、多発性である場合や、肝門部や血管に近いなど手術の侵襲性や合併症が懸念される場合は、内科的治療が選択されます(8)。

炎症の全身症状としての発熱については、そのメカニズムを先週までの講義で詳しく説明しています。学生さんたちは、内因性の発熱物質は何だったか、炎症の局所で産生された何が、肝臓や中枢神経系に作用するのかを想起させて下さい。また、CRPの構造や産生部位、その機能についても、講義で詳しく触れていますし、過去の事例でも採り上げています。皆さんで自己学習して下さい。

PCR法については、これまでのコースの中で何度も触れられていると思いますので、その原理を図で説明出来るようにして下さい。膿瘍の穿刺検体から培養によって起因菌を分離することも出来ますが、本例のように治療を優先して既に抗生物質が投与されている場合は、増殖不良で分離が困難な場合もあります。PCR法は、そのような場合でも起因菌の同定に役立つ可能性があります。カタラーゼ陽性の黄色ブドウ球菌は、慢性肉芽腫症患者で特に起因菌となる可能性が高いことも想起して下さい。

さて、抗菌薬投与で起因菌が消失した後も、肝臓に腫瘍性病変が持続し、リンパ球浸潤を伴う肉芽腫が形成されたのは何故でしょうか？これは、そもそも「慢性肉芽腫症」の患者で、何故全身各組織に肉芽腫が形成されるのかという疑問に通じます。実は、慢性肉芽腫症の患者では消化管の肉芽腫形成も高い頻度で認められ、炎症性腸疾患との鑑別が問題になります。食細胞の殺菌能が欠損するため、起因菌が早期に排除されず炎症刺激が持続することは、勿論肉芽腫形成の一つの要因となりますが、今回の事例にも見られるように、本症の患者では抗生物質の投与により起因菌が検出されなくなった後も、肉芽腫形成機構が持続する現象がしばしば認められます。実際、抗生物質の持続投与やINF- γ 投与により慢性肉芽腫症患者の長期生存が可能となってくるにつれ、「CGD腸炎」と称される持続的な炎症や、肉芽腫の形成が前面に出て来る症例が増えていると言われます(5)。

慢性肉芽腫症におけるこのような炎症反応の持続と肉芽腫形成の原因として、最近食細胞におけるシグナル伝達分子としての活性酸素種の役割が注目されています。即ち、通常食細胞が活性化し代謝活性化によりO₂⁻などの活性酸素種が形成されると、細胞膜脂質二重層の細胞質側に面するホスファチジルセリン(PS)などアミノリン脂質が酸化され、これが二重層の細胞外に面する側に移動します。また、活性酸素種の放出は酸化ストレス応答の一環としてスクランブラーゼ(scramblase)を活性化させ、脂質二重層の細胞質側に選択的に分布しているPSが細胞表面側に移動します。PSの細胞表面側への発現は、マクロファージなどPS受容体を持つ細胞に対して「eat-meシグナル」として作用し、BAI1、TIM4などの受容体を介し、また分泌されたMilk fat globule-EGF factor 8 protein(MFGE8: lactadherin)と $\alpha_v\beta_3$ インテグリンの結合を介して、マクロファージが細菌を貪食した好中球などを貪食することとなります。この過程は体内におけるアポトーシス細胞の貪食処理過程と一緒に、この場合マクロファージはTGF- β を産生し、炎症反応を抑制します(9, 10)。

慢性肉芽腫症患者の食細胞では、食細胞NADPHオキシダーゼ機能の欠損により活性酸素種の放出が起こりませんから、細菌を貪食した好中球などが細胞表面にPSを出すことがなく、マクロファージによる貪食が起こらないため、TGF- β の産生も起こりません(11)。

一方、食細胞への細菌菌体成分取り込みは細胞質内のインフラマソーム複合体形成を引き起こし、caspase-1の活性化によりIL-1 β 及びIL-18前駆体から活性型のIL-1 β 及びIL-18が産生されて炎症反応を引き起こします。この際、活性酸素種の存在はcaspase-1の活性化を強く抑制することが知られていますが、慢性肉芽腫症患者の食細胞では、活性酸素種の産生が起こらないため、caspase-1の活性化が抑制できず、IL-1 β やIL-18の産生が持続的に起こってしまいます(5, 12)。

このように、慢性肉芽腫症患者では、細菌の貪食・殺菌過程で正常に機能すべき炎症抑制機構が働かないため、持続的な炎症反応が起こり肉芽腫形成に繋がると考えられています。なお、上で述べたサイトカイン産生調節の異常については、後に保因女性の病態を考える時重要になります。

参考文献

- 8) 星野 顕宏、他. 抗菌薬投与により治癒し得た再発性肝膿瘍を合併した慢性肉芽腫症の一例. 小児感染免疫 24:175-179, 2012.
- 9) Bengt Fadeel, Ding Xue, and Valerian Kagen. Programmed cell clearance: Molecular regulation of the elimination of apoptotic cell corpses and its role in the resolution of inflammation. **Biochem. Biophys. Res. Comm.** 396:7-10, 2010.
- 10) Ivan K. H. Poon, *et al.* Apoptotic cell clearance: Basic biology and therapeutic potential. **Nat. Rev. Immunol.** 14:166-180, 2014.
- 11) Nikolaus Rieber, *et al.* Current concepts of hyperinflammation in chronic granulomatous disease. **Clin. Dev. Immunol.** 2012:252460, 2012.
- 12) Frank L. van de Veerdonk, *et al.* Reactive oxygen species-independent activation of the IL-1 β inflammasome in cells from patients with chronic granulomatous disease. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 107:3030-3033, 2010.

事例5（12月10日・水曜日に提示）

K子さんの下の弟は、抗生物質の持続投与を受けているにも関わらず重篤な細菌感染症反復し、肝膿瘍も生じたので、造血幹細胞移植の適応と判断されました。HLA遺伝子型の検査をした結果、K子さんも上の弟も完全一致でしたが、主治医はK子さんではなく弟をドナーと決めたようです。K子さんは、「どうして成人の私がドナーになってはいけないのですか？」と主治医に訊きましたが、「弟さんの造血幹細胞を使う方がGvH病の可能性が低い」という返事でした。そういえば、GvH病というのを習ったことがあると、K子さんは思い出しました。

キーワード例

- ☐ 細菌感染症の反復
- ☐ 肝膿瘍
- ☐ 造血幹細胞移植
- ☐ HLA
- ☐ 遺伝子型
- ☐ 完全一致
- ☐ ドナー
- ☐ GvH病
- ☐ 弟と姉

こんなことを考えてみよう

- ☐ 慢性肉芽腫症の根治療法には何がある？
- ☐ どのような場合に造血幹細胞移植の適応となるのだろうか？
- ☐ 造血幹細胞とはどのような細胞？
- ☐ 造血幹細胞移植にはどのような方法があるの？
- ☐ 造血幹細胞移植以外に根治療法は考えられないだろうか？
- ☐ HLAとは何だろうか？
- ☐ 同胞間でHLA遺伝子型が完全一致となる確率はどのくらい？
- ☐ HLAの遺伝子型は同じなのに、何故K子さんよりも弟の方がドナーとして適しているのだろうか？
- ☐ GvH病とはどういう病気？

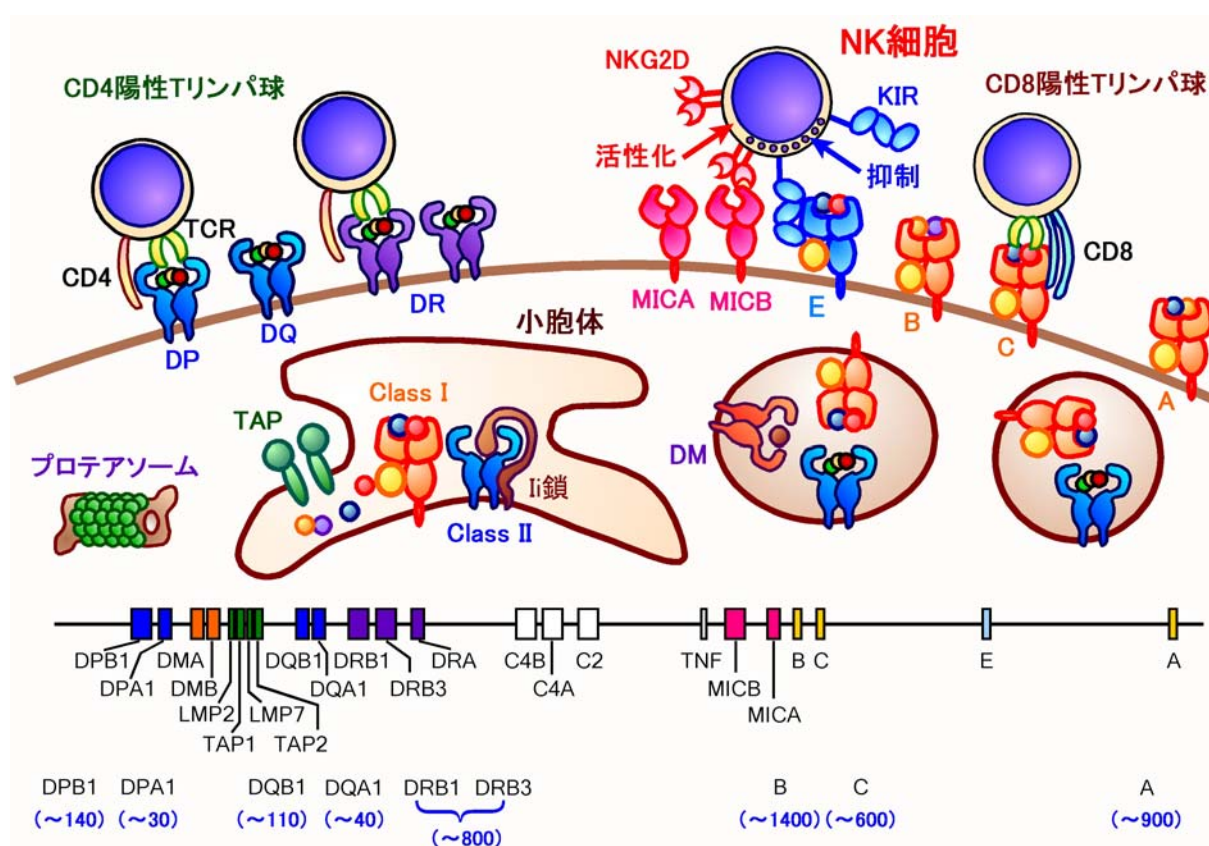
解説

抗菌薬の積極的な投与や、IFN- γ の併用により、慢性肉芽腫症患者の生存期間は延長し、30歳に達する患者も増えてきましたが、肉芽腫を十分に治療できない症例や、抗菌薬の副作用による臓器障害などが生じた場合は、ドナーがあれば造血幹細胞移植の適応となります。

慢性肉芽腫症は原因遺伝子が明らかな疾患ですから、造血幹細胞移植以外の根治療法として、遺伝子治療も考えられます。実際、1995年の米国NIHでの5例を皮切りに、ドイツやイギリスなど数カ国で慢性肉芽腫症に対する遺伝子治療が実施されており、我が国でもつい先日（平成26年7月22日）、国立育成医療研究センターで国内第1例が実施されて、患者は良好な経過を示して退院したと発表されています。しかし、一方で、遺伝子治療が成功したように見えても、長期間の観察で導入した遺伝子の発現が低下していく例も多く（レトロウ

イルスベクターLTRのメチル化が検出されています)、これまで全ての例で用いられているレトロウイルスベクターの安全性に関する懸念(*Evi1*サイトへなどへのLTR挿入)も払拭できず、現時点では、遺伝子治療は根治療法の第一選択にはなり得ていません。

造血幹細胞移植については既に過去の事例でも扱っていますので、チュータの先生方は、学生たちに以前の事例を扱ったホームページを参照するよう指示して下さい。造血幹細胞移植の方法には骨髄移植と末梢血幹細胞移植がありますが、移植片対宿主病(GvH病)発症の可能性が低いのは、骨髄移植です。しかし、骨髄移植にはドナーへの侵襲という問題点もあります。



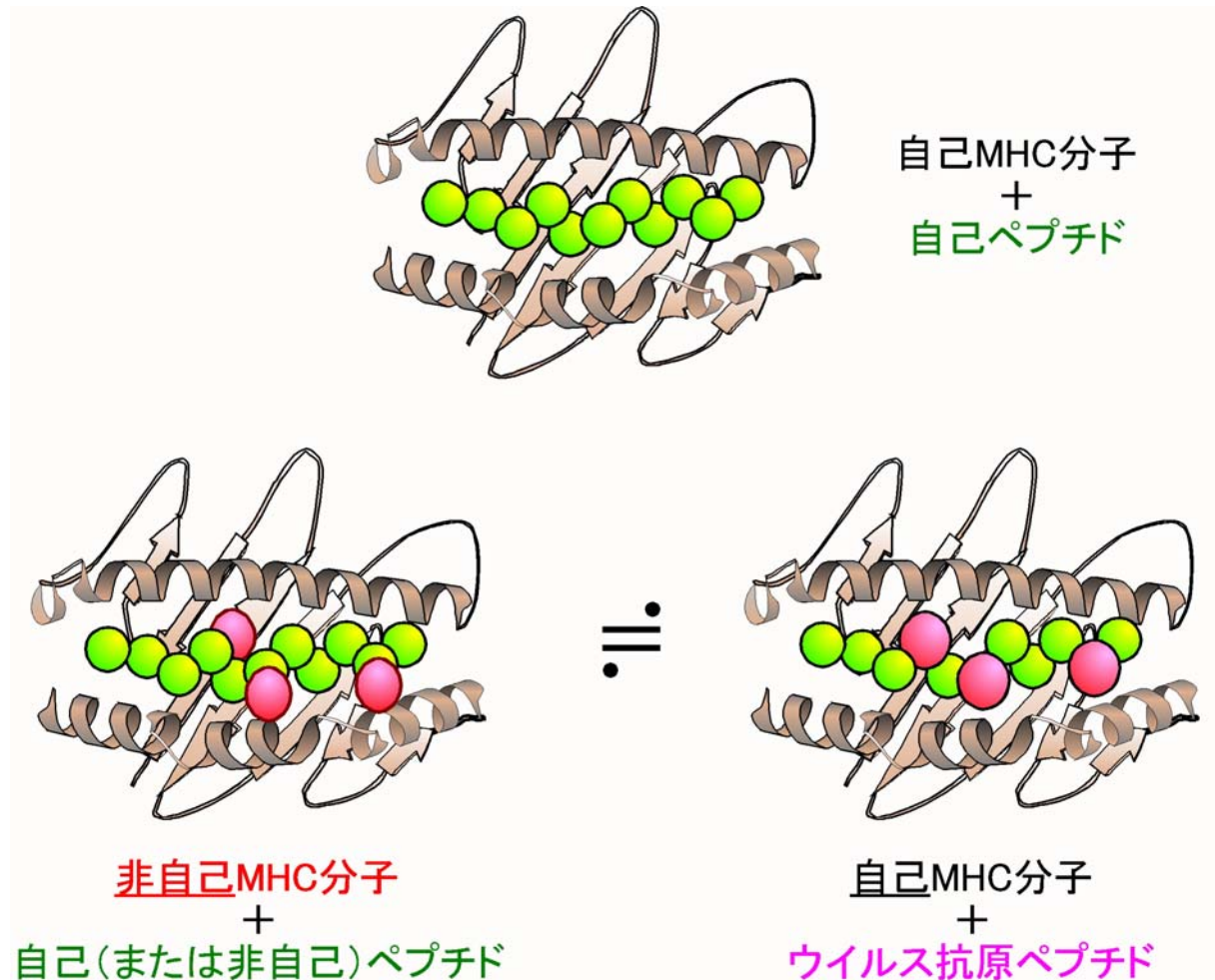
MHC分子の機能とMHC遺伝子については、毎年講義で詳しく触れています。ヒトのMHCであるHLAの遺伝子座と、各遺伝子座における対立遺伝子の多型についても、既に一部を述べ、来週非常に詳しく講義します。HLAの各遺伝子座が存在するヒト第6染色体の領域には、比較的狭い範囲に複数のclass I及びclass II遺伝子座が密集して存在しており、減数分裂の過程でそれら遺伝子座の間に乗り換えが起こる確率はかなり低いので、複数のHLA遺伝子座の特定の対立遺伝子の組(ハプロタイプ)が、あたかも一つの遺伝子座の対立遺伝子であるかのように、親から子へとひとまとまりで遺伝するという現象が起こります(連鎖不平衡)。このため、大雑把に言えば同じ両親から生まれた同胞間で、HLAの全ての遺伝子型が互いに一致する確率は、およそ1/4になるのです。今回の事例のように、レシピエントとなる下の弟に対して、上の弟も姉であるK子さんもHLA遺伝子型が完全一致となると言うことも、決して例外的な出来事ではないのです。

それでは、主治医は何故K子さんではなく、弟をドナーに選んだのでしょうか？

これには、MHC以外のマイナー抗原の不一致という問題が絡んでいます。一卵性双生児でない限り、同胞間でMHCの遺伝子型が一致したとしても、それ以外の遺伝子についても全て対立遺伝子型が同じであると言うことはあり得ません。つまり、MHC遺伝子型は同じであっても、体内で発現している他のタンパク質のアミノ酸配列が互いに異なるということはいく

らでもありうる訳です。そうすると、MHC遺伝子型が一致しているだけに、同一のMHC分子上に提示されるMHC以外の遺伝子産物のアミノ酸配列の違いに対して、ドナー由来のT細胞が反応するという可能性が生じてきます。こうした場合、慢性のGvH病が発生する可能性が出て来る訳です。特にドナーが女性でレシピエントが男性の場合、ドナーの細胞が決して発現していないY染色体の遺伝子産物や、テストステロンで発現が誘導される遺伝子の産物がレシピエントの細胞にはありますから、同性のドナーからの移植に比べ、GvH病の危険性は高まります。これについては、以前の事例で詳しく解説していますので、そちらを参照して下さい。

GvH病についても、以前の事例が参考になりますし、講義でも詳しく触れます。



事例6（12月12日・金曜日に提示）

骨髄移植と聞いて、K子さんはレシピエントとなる下の弟は、全身の放射線照射を受けて骨髄を空っぽにするのかと思いましたが、主治医の先生は、「最近では骨髄非破壊的前処置という方法を採用することが多くなりました」と教えてくれました。低線量全身照射を受けた下の弟には、上の弟から骨髄移植が行われました。GvH病の予防として、移植前からシクロスポリンが投与され、2ヶ月目から減量して、半年で投薬中止となりました。移植後1年が経過しましたが、末梢血の遺伝子検査でドナータイプが45～60%のキメラ状態が維持されており、NBT還元能も60～90%で、移植は成功したとのこと。入院で一年以上遅れてしまいましたが、来年は下の弟も高校受験が出来そうです。

キーワード例

- ☐ 骨髄移植
- ☐ レシピエント
- ☐ 全身照射
- ☐ 骨髄非破壊的前処置
- ☐ 低線量全身照射
- ☐ シクロスポリン
- ☐ 遺伝子検査
- ☐ キメラ状態
- ☐ NBT還元試験
- ☐ 移植は成功
- ☐ 受験

こんなことを考えてみよう

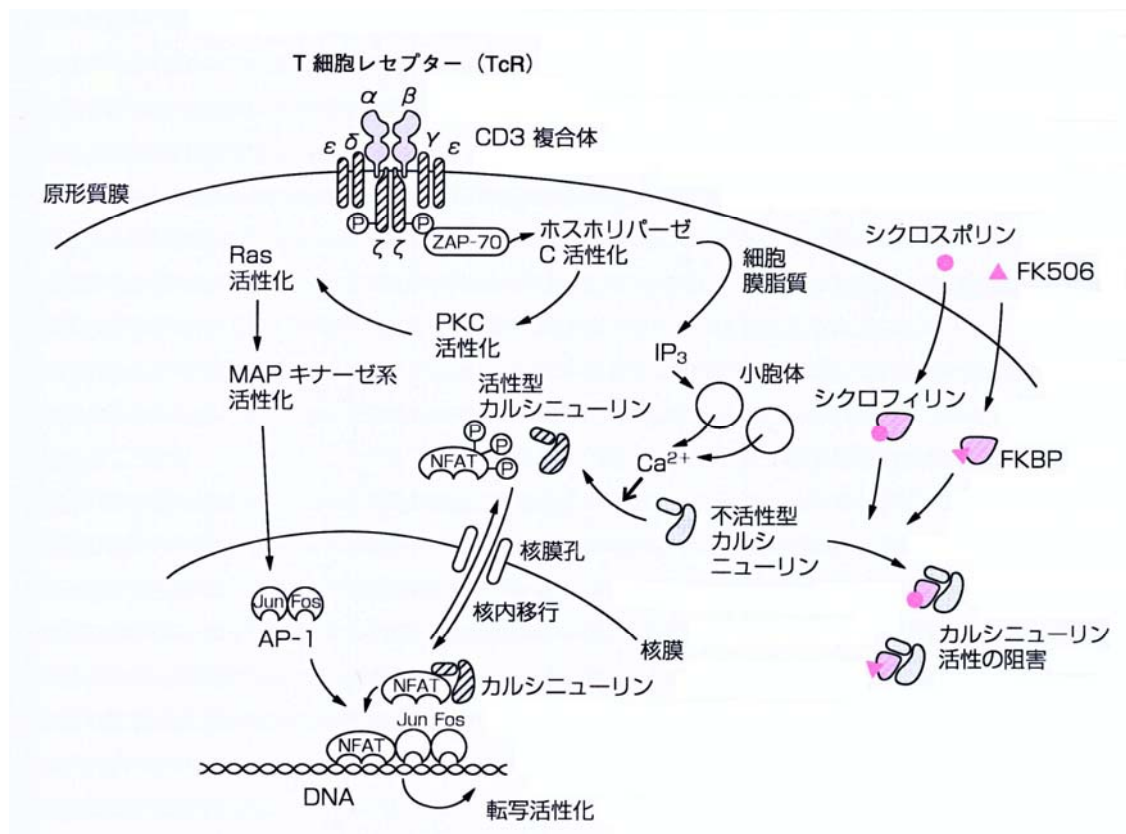
- ☐ 骨髄移植の前処置は何のためにするのだろうか？
- ☐ 骨髄非破壊的前処置とはどのようなものだろうか？
- ☐ 全身照射の理由は何か？
- ☐ シクロスポリンとはどういう薬？
- ☐ シクロスポリンの作用機序は？
- ☐ 遺伝子検査とは、具体的にどのようなことをするのだろうか？
- ☐ キメラ状態とはどういうこと？
- ☐ NBT還元能は60%で良いのだろうか？

解説

慢性肉芽腫症に対する骨髄移植治療の場合、以前は造血幹細胞を完全にドナーのものと置き換えるため骨髄破壊的な前処置（例えば12Gyの全身照射）が必要と考えられていました。しかし、白血病に対する骨髄移植と異なり、レシピエントの骨髄中に腫瘍細胞が残存する可能性が問題になる訳ではなく、保因女性のNBT還元試験におけるキメラ状態からも明らかな通り、末梢血の食細胞が100%正常の食細胞NADPHオキシダーゼ機能を持たないと感染病態が発現するというわけではないため、最近では骨髄非破壊的な前処置を用いて末梢血のキメラ状態形成を目指す治療が多く用いられるようになり、成功例が報告されています(13)。実際、高線量の全身照射による骨髄破壊的な前処置を行った例では、長期経過の中で照射部位からの骨肉腫発生などの事例も報告されており、前処置による体細胞の変異誘

導も懸念されます。一方、遺伝子治療の症例で、末梢血好中球のNBT還元試験陽性率が数%であっても慢性肉芽腫症の臨床症状が出ていない例も報告されており、このことも全ての食細胞がNADPHオキシダーゼ機能を回復する必要は無いことを示しています。

この事例では、低線量の全身照射後にHLA完全一致の弟から骨髄移植が行われ、生着が得られました。GvH病発症を予防するために、免疫抑制薬としてシクロスポリンが投与されていますが、実際は移植直後に短期間メトトレキサートも併用するのが一般的です(13)。ここでは、学生さんたちにシクロスポリンの作用機序を復習して貰うのが目的ですので、シクロスポリンがどのようにして発見されたのか、その作用機序はどのようなものであったかを自問して下さい。



末梢血白血球の遺伝子型を決定する方法にはいろいろなものがありますが、最も標準的な方法としては、血縁関係の鑑定にも用いられるSTR (short tandem repeat) 法があります。これは、染色体上に分布する繰り返し配列 (マイクロサテライトなど) の反復回数を、周辺に設定した特異的プライマーを用いたPCR法で決定するもので、予め兄弟間でサイズの違うSTRを同定しておけば、その後末梢血白血球のゲノムDNAを抽出して混合キメラの程度を測定することが出来ます。

参考文献

- 13) 安井 直子、他. 慢性肉芽腫症4例の移植経験. 日本造血細胞移植学会誌 2:116-120, 2013.

事例7（12月15日・月曜日に提示）

下の弟の骨髄移植が成功したのも束の間、長年の看病の疲れが出たのでしょうか、K子さんのお母さんの両頬に、突然ぼつぼつと赤い発疹が出現しました。微熱もあり、全身の関節も痛いと言うことです。弟の病気のことを詳しく勉強していたKさんは、嫌な予感がしてすぐにお母さんを大学病院に連れて行きました。抗核抗体の検査は160倍で弱陽性、抗二本鎖DNA抗体は陰性とのことで、皮疹も薬を貰って消えました。

キーワード例

- ☐ 看病の疲れ
- ☐ 両頬に発疹
- ☐ 微熱
- ☐ 関節痛
- ☐ 嫌な予感
- ☐ 大学病院
- ☐ 抗核抗体
- ☐ 抗DNA抗体
- ☐ 皮疹

こんなことを考えてみよう

- ☐ 両頬に赤い発疹が出る病気は？
- ☐ 発熱や関節痛の存在は何を示す？
- ☐ 両頬の発疹と関節痛は関係があるのだろうか？
- ☐ Kさんは何を予感したのだろうか？
- ☐ 抗核抗体とは何だろうか？
- ☐ 抗核抗体と抗DNA抗体は違うのだろうか？
- ☐ 皮疹に対してはどのような治療をしたのだろうか？

解説

事例6までで慢性肉芽腫症の原因、病態、治療法などをほぼカバーできました。事例7を考える前に、骨髄移植の方法やGvH病の発症メカニズム、シクロスポリンの作用機序などをもう一度整理し、先週までの学習事項を振り返って下さい。

さて、今週はX染色体連鎖慢性肉芽腫症の保因女性に認められる炎症性疾患を考えることで、コースの後半で触れるアレルギー反応や自己免疫病への導入とします。

慢性肉芽腫症では、単に殺菌できない細菌や真菌が起因菌として存続するだけでなく、抗生物質による治療後も、全身の各種組織に肉芽腫形成が持続することを既に述べました。また、これが活性酸素種を形成することの出来ない好中球がマクロファージに貪食されず、マクロファージからのTGF- β 産生が起こらない上、インフラマソームによるIL-1 β やIL-18産生の抑制が起こらないためと考えられることも解説済みです。

ところで、X染色体連鎖慢性肉芽腫症の保因女性では、ランダムに起こるX染色体の不活化のため、体内に正常な食細胞NADPHオキシダーゼ機能を持つ細胞と、これを欠く細胞とがキメラ状態で混在します。従って、NADPHオキシダーゼ機能を欠く食細胞が細菌に触れることにより、キャリアでない人に比べ、IL-1 β やIL-18の産生が上昇し、長く続く状態が生じていると予想されます。実際、X染色体連鎖慢性肉芽腫症のキャリアでは、高い頻度で光線

過敏症、関節痛、全身倦怠、口腔潰瘍などの症状が見られ、低値ながら抗核抗体や抗二本鎖DNA抗体が検出される例もあることが報告されています。皮膚生検で円板状ループスとの診断が与えられている例も報告されています(14, 15)。

既に解説したように、活性酸素種の産生を欠く食細胞では細胞膜脂質二重層のホスファチジルセリンが膜表面側に露出せず、マクロファージによるアポトーシス細胞の貪食が効率的に行われません。アポトーシス細胞の貪食処理に関するTim-4、MFGE8などの受容体を欠く遺伝子改変マウスでは、抗二本鎖DNA抗体産生などの自己免疫現象が起こることが長田らによって示されており(16)、これがX染色体連鎖CGDキャリアに見られる抗核抗体産生と皮疹のしくみを説明するかも知れません。これに、IL-1 β とIL-18の産生亢進が加わることで、全身性の炎症症状が生じている可能性があります。

参考文献

- 14) S. D. Rosenzweig. Inflammatory manifestations in chronic granulomatous disease (CGD). **J. Clin. Immunol.** **28 (Suppl. 1)**:S67-S72, 2008.
- 15) C. M. Cole, L. Morton, and D. Goldblatt. Cutaneous and other lupus-like symptoms in carries of X-linked chronic granulomatous disease: incidence and autoimmune serology. **Clin. Exp. Immunol.** **148**:79-84, 2007.
- 16) Masanori Miyanishi, Katsumori Segawa, and Shigekazu Nagata. Synergistic effect of Tim4 and MFG-E8 null mutations on the development of autoimmunity. **Int. Immunol.** **24**:551–559, 2012.

事例8（12月17日・水曜日に提示）

K子さんは、保因者であるお母さんにどうしてSLEに似た所見が出たのだろう、自分はどうなのだろうかと考えました。そう言えば、下の弟の場合も、肝臓の腫瘍に細菌が検出されなくなっても肉芽腫形成が続いていました。好中球の機能に異常があると、どうして肉芽腫や慢性炎症が起こるのでしょうか？

キーワード例

- ☐ 保因者
- ☐ SLE
- ☐ K子さんはどうか？
- ☐ 肝臓の肉芽腫
- ☐ 慢性炎症

こんなことを考えてみよう

- ☐ K子さんのお母さんの病態は、SLEとして良いのか？
- ☐ SLEの病因は何だろうか？
- ☐ SLEにはどんな遺伝子異常が知られているだろうか？
- ☐ 好中球機能異常は、何故肉芽腫形成に結び付くのだろうか？

解説

事例の纏めに入ります。K子さんのお母さんの話を出したのは、既に事例4の解説でも触れた、好中球における活性酸素種の産生と炎症制御の関係をもう一度整理して貰うのが目的です。

講義の中でも触れますが、SLE様の病態を伴う遺伝子異常としては、補体C2やC4の欠損症が有名です。一般に免疫複合体が関与すると考えられるSLE病態が、補体欠損症で認められるのは一見不思議ですが、実は免疫複合体による糸球体腎炎や血管炎の発症に補体は必要でなく、マスト細胞、好塩基球、血小板の発現するFc受容体の機能が必須であることが、遺伝子改変マウスを用いた解析で明らかにされています。一方、古典経路による補体活性化の初期因子であるC2やC4が欠損すると、流血中の免疫複合体に対してC3が活性化しませんから、赤血球の持つC3b受容体(CR1)による免疫複合体の脾への運搬と処理が出来ず、血中に免疫複合体が長期にわたって存在する事態となります。このため、補体C2やC4の欠損症ではSLE様の病態が生じると考えられています。逆に、この事実が免疫複合体病の発症に補体が必要でないこと、糸球体腎炎や血管炎は免疫複合体病のしくみで起こっていることを示しています。

一方、SLEを持つ母親から生まれた新生児には、しばしばSLEに見られるのと似た分布を示す皮疹が一過性に認められます。胎盤を通過するのはIgG抗体ですから、上記の事実はSLEの皮疹発生にIgG抗体が関与することを示します。

SLEの分類基準については、最終日に非常勤講師の泉山先生も講義してくれます。単純に分類基準だけであれば、光線過敏症、関節炎（関節痛だけでなく、炎症所見があること）、口腔潰瘍、抗dsDNA抗体、抗核抗体の項目を満たした患者はSLEと分類されることとなりますが、自己抗体価も低く、背景の遺伝子異常が明らかですから、SLEとはされないでしょう。この辺の考え方については、事例発表会で泉山先生の意見を聞きたいと思います。