



## 医学検査のあゆみ-24

# 原発性免疫不全症における診断のすすめ方 — 最近の動向 —

かね がね ひろ かず たか しま たけ ひろ いま い こう すけ  
金 兼 弘 和 : 高 島 健 浩 : 今 井 耕 輔  
Hirokazu KANEGANE Takehiro TAKASHIMA Kohsuke IMAI

### はじめに

原発性免疫不全症 (primary immunodeficiency disease : PID) とは免疫すなわち生体防御機構の破綻によって自己と非自己を区別することができなくなる病態である。易感染性を呈するのはもちろん、自己免疫疾患、悪性腫瘍、自己炎症性疾患、アレルギー性疾患を合併することもある。まれな疾患であり、臨床的多様性があり、一見他の疾患としか見えないこともあり、日常診療の中では見逃されがちである。しかし、実際には 1000 人に 1 人くらいの発症頻度があり、決してまれな疾患ではないとされている<sup>1)</sup>。また早期診断、早期治療介入によって生命予後は比較的良好であるにもかかわらず、診断の遅れが致死経過となることもあり、早期診断が極めて重要である。治療は専門医に委ねるにしても、診断を担うのは一般臨床医であり、本稿では日常診療の現場でいかに PID を疑い、診断をすすめていくかについて概説する。

### I. どのようなときに免疫不全症を疑うか

PID を疑うまず一步は易感染性の存在に気づくことである。易感染性とは反復感染、重症感染、持続感染、日和見感染がみられる場合であるが、反復感染や重症感染は健常小児でもあり得るが、持続感染や日和見感染は健常小児ではまずあり得ないことであり、二次的要因がなければ PID を疑うべきである。

Jeffery Modell Foundation (JMF) (<http://www.info4pi.org/>) は PID についてさまざまな活動を行っ

ている国際的な団体である。JMF は一般人ならびに一般臨床医に向けて「PID を疑う 10 の警告」というパンフレットを作成し、PID の診断の重要性を啓蒙している。原発性免疫不全症調査研究班ではこれの改訂日本版として「PID を疑う 10 の徴候」(図 1) を作成している。1. 乳児で呼吸器・消化器感染症を繰り返し、体重増加不良がみられる。2. 1 年に 2 回以上肺炎にかかる。3. 気管支拡張症を発症する。4. 2 回以上、髄膜炎、骨髄炎、蜂窩織炎、敗血症や、皮膚膿瘍、臓器内膿瘍などの深部感染症にかかる。5. 抗菌薬を服用しても 2 か月以上感染症が治癒しない。6. 重症副鼻腔炎を繰り返す。7. 1 年に 4 回以上、中耳炎にかかる。8. 1 歳以降に、持続性の鷓口瘡、皮膚真菌症、重度・広範な疣贅(いぼ)がみられる。9. BCG による重症副反応(骨髄炎など)、単純ヘルペスウイルスによる脳炎、髄膜炎菌による髄膜炎、EB ウイルスによる重症血球貪食症候群に罹患したことがある。10. 家族が乳幼児期に感染症で死亡するなど、原発性免疫不全症を疑う家族歴がある。これらのうち 1 つでもあれば PID の可能性がないか専門医に相談するようにと書いているが、これらの徴候があれば即 PID というわけではなく、これらの徴候をきっかけとして PID が診断されることがあるので、注意が必要とのメッセージである。特に 1. は PID でも最も緊急性を要する重症複合免疫不全症(severe combined immunodeficiency : SCID) を疑う重要サインである。また最も診断に直結するのは 10 の家族歴である<sup>2)</sup>。たとえ感染症であっても、両親、祖父母のみならず広く血縁者を対象に家族歴の

01 乳児で呼吸器・消化器感染症を繰り返すし、体重増加不良や発育不良がみられる。

02 1年に2回以上肺炎にかかる。

03 気管支拡張症を発症する。

04 2回以上、髄膜炎、骨髄炎、蜂窩織炎、敗血症や、皮下膿瘍、臓器内膿瘍などの深部感染症にかかる。

05 抗菌薬を服用しても2か月以上感染症が治癒しない。

06 重症副鼻腔炎を繰り返す。

07 1年に4回以上、中耳炎にかかる。

08 1歳以降に、持続性の重口瘡、皮膚真菌症、重症・広範な疣贅(いぼ)がみられる。

09 BCGによる重症副反応(骨髄炎など)、単純ヘルペスウイルスによる肺炎、髄膜炎による髄膜炎、EBウイルスによる重篤な血球減少症発症後に罹患したことがある。

10 家族が乳幼児期に感染症で死亡するなど、原発性免疫不全症候群を疑う家族歴がある。

これらの所見のうち1つ以上当てはまる場合は、原発性免疫不全症の可能性がないか専門の医師に相談して下さい。この中で、乳児期早期に発症することの多い重症複合免疫不全症は緊急に治療が必要です。

●以下のインターネットサイトで、専門医が紹介されています。  
<http://pidj.rcai.riken.jp/public.html>

## 原発性免疫不全症を疑う10の徴候

— 患者・プライマリーケア医師へ向けて —

厚生労働省 原発性免疫不全症候群調査研究班 (2010年改訂)  
 (Jeffrey Modell Foundation : 10 Warning Signs of Primary Immunodeficiencyより改変)

10 warning signs of primary immunodeficiency

図1 PIDを疑う10の徴候

聴取が重要である。

ワクチン接種歴も重要である。PID、特に抗体産生不全症では接種ワクチンに対する特異抗体が産生されていないことがしばしばである。メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症 (Mendelian susceptibility to mycobacterial disease : MSMD) や慢性肉芽腫症 (chronic granulomatous disease : CGD) では、BCG接種後に骨髄炎などの重症副反応がしばしば認められる。持続感染あるいは顕在化に関して、ポリオワクチンはすべて不活化ワクチンに切り替わったので、問題は解決されたが、新たに導入されたロタウイルス接種による持続感染の問題が生じている<sup>3)</sup>。

PIDはDiGeorge症候群やWiskott-Aldrich症候群(WAS)のように症候群として発症し、さまざまな随

伴症状や合併症を有することがある。心疾患、神経疾患、内分泌疾患、腎疾患、皮膚疾患、血液疾患、消化器疾患、骨・歯牙の疾患、外表奇形、小人症などの特異的な随伴症状や合併症を契機にPIDの診断に至ることがあるので、それらの症状にも留意する。

PIDに合併した感染症における病原体の同定は治療においてはもちろんであるが、診断においても重要である。一般に細菌感染症は抗体産生不全症、ウイルスならびに真菌感染症は細胞性免疫不全症に多いとされるが、最近特定の病原体にのみ易感染性を示すPIDも知られるようになり、原発性免疫不全症調査研究班では病原体からみた免疫異常を作成している(図2)。重症肺炎球菌感染症は無脾症やWASだけでなく、IRAK4およびMYD88欠損症で

APECED: autoimmune polyendocrinopathy with candidiasis and ectodermal dystrophy

AD: 常染色体優性, AR: 常染色体劣性遺伝

CGD: 慢性肉芽腫症

CHS: Chediak-Higashi症候群

CMCC: 慢性皮膚粘膜カンジダ症

EDA-ID: 無汗性外胚葉

形成異常を伴う免疫不全症

EV: 疣贅状表皮異形成症

HIES: 高IgE症候群

\* 免疫異常の分類はIUIS委員会  
2007年度版によっている。

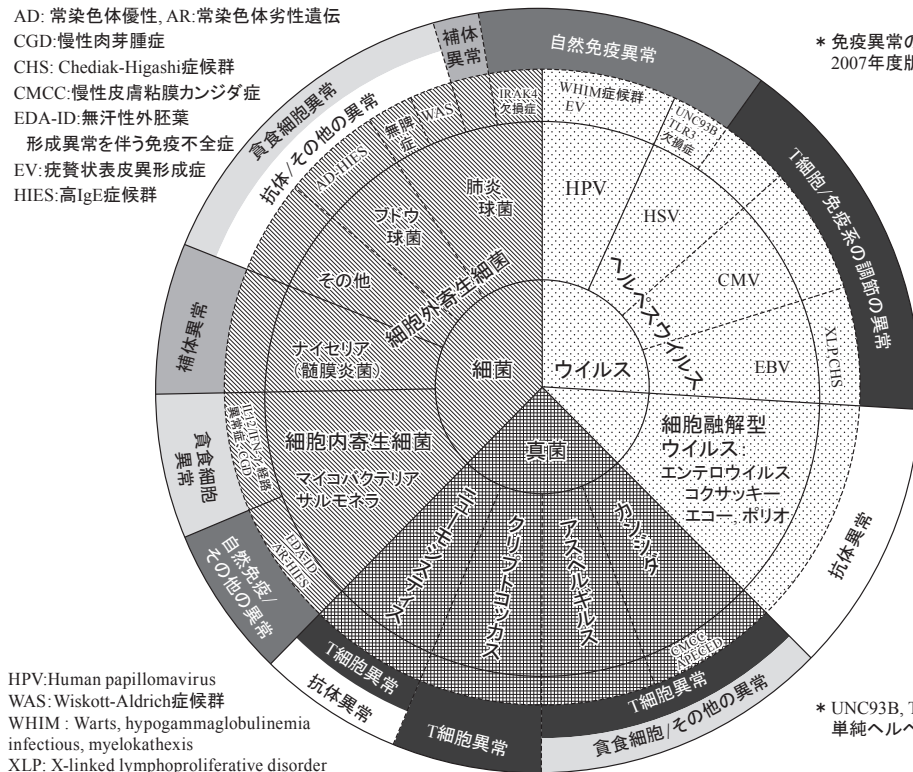


図2 病原体からみた免疫異常

も認められる。UNC93B および TLR3 欠損症では単純ヘルペス脳炎が認められる。慢性皮膚粘膜カンジダ症ならびに自己免疫性多内分泌腺症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィーはカンジダに易感染性を示し、これには IL-17 の機能障害が関わっている<sup>4)</sup>。

## II. 免疫不全症を疑った場合に行う一般検査

まずは血算ならびに血液像を調べる。血液像は白血球分画だけでなく、形態異常を確認するために必ず目視する。生後間もなくから重度の好中球減少症を認めた場合には、重症先天性好中球減少症 (severe congenital neutropenia : SCN) が疑われる。T細胞はリンパ球の約70%を占めるため、リンパ球減少を認めた場合には、T細胞減少症すなわち細胞性免疫不全症が疑われる。血小板サイズの減少を伴う血小板減少症を認めた場合には WAS が疑われる。白血球の細胞質内に巨大顆粒を認めた場合には、Chédiak-Higashi 症候群が疑われる。

細胞性免疫不全症を疑った場合、リンパ球数の確認が必要であるが、%のみならず、絶対数を年齢相

応の基準値と比較して行う。乳児でリンパ球数 3,000/ $\mu$ L 未満は要注意である。続いてフローサイトメトリーによりリンパ球サブセット (CD4, CD8, NK, B細胞) を調べる。生後間もなくから T細胞欠損を認めた場合には SCID あるいは DiGeorge 症候群の可能性が高く、確定診断を急ぐ必要がある。T細胞機能の古典的評価法として PHA や ConA 刺激によるリンパ球幼若化試験があり、無刺激と刺激した場合のカウント数の比率で評価するが、無刺激のカウント数でこの比率は大きく変わるので、絶対数による評価も必要である。T細胞機能評価として最近では T細胞受容体の再構成の際に切り出される環状 DNA である T cell receptor excision circles (TRECs) をリアルタイム PCR 法で定量する方法にとって代わられようとしている (図3)<sup>5)</sup>。この方法はガスリー濾紙血からの微量検体でも測定可能であり、SCID に代表される T細胞減少症を新生児マススクリーニングすることができ、すでに米国のほとんどの州で行われており、わが国でもようやくパイロットスタディが始まったところである。

抗体産生不全症を疑った場合には、血清免疫グロ



プリン値ならびに既感染や接種ワクチンに対する特異抗体価の測定を行う。IgG だけでなく、IgA ならびに IgM も同時に評価を行う。また IgG が正常であっても臨床的に抗体産生不全症が疑われる場合には IgG サブクラスを測定する。なかでも IgG2 は肺

炎球菌やインフルエンザ菌の夾膜抗原に対する抗体を有する重要な分画であるが、最近その測定がようやく保険収載された。無ガンマグロブリン血症ではリンパ球サブセットを調べ、末梢血 B 細胞が 2% 未満で、男児であれば X 連鎖無ガンマグロブリン血症 (X-linked agammaglobulinemia : XLA) の可能性が高い。

好中球数減少を認めた場合には、自己免疫性好中球減少症を鑑別するために抗好中球抗体を測定する。SCN が疑われる場合には骨髓穿刺を行い、顆粒球系細胞の成熟度を評価する。臍帯脱落遅延に好中球数増多を伴う場合には白血球接着不全症を疑って、好中球表面の CD11/CD18 を調べる。化膿性リンパ節炎などの化膿性病変を認める場合には CGD を疑って、活性酸素の産生能を調べる。さまざまな方法があるが、DHR123 色素を使ったフローサイトメトリーが簡便かつ感度がよい。図 4 に PID を疑った場合の一般検査のすすめ方をフローチャートに示す。

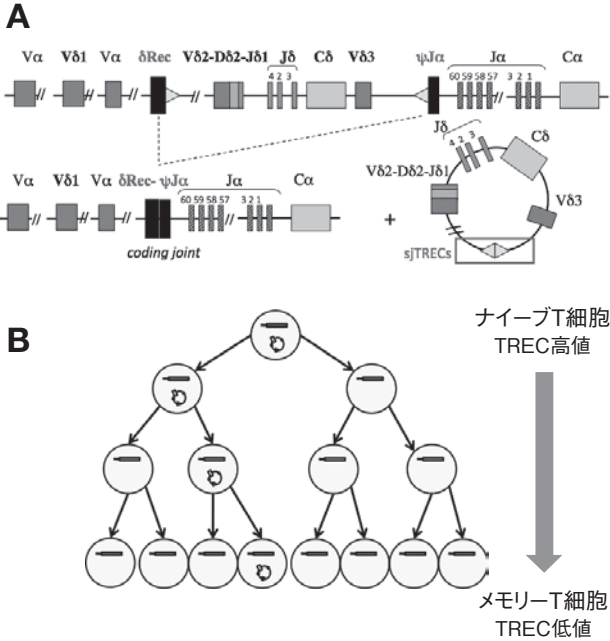


図 3 TREC

**A** : T 細胞の分化過程で、T 細胞受容体δ鎖をコードする部分が切り取られ環状 DNA (signal joint TRECs) となる。この切断部分はおおむね共通であるため、これを PCR で増幅することが可能となる。

**B** : ナイーブ T 細胞が抗原に出会い、メモリー T 細胞となる過程で増幅、分裂する。sjTREC は複製されないため、単位 DNA に対して減少していく。

### Ⅲ. フローサイトメトリーによる診断

PID はヒト免疫系を構成するリンパ球や顆粒球などのさまざまな細胞分画の分化障害や機能障害に基づくため、免疫担当細胞のリンパ球サブセット解析は PID の診断はもちろんのこと病態解析に欠かせない検査である。CD4, CD8, NK, B 細胞サブセット解析は外注検査でも可能であるが、PID の診断に

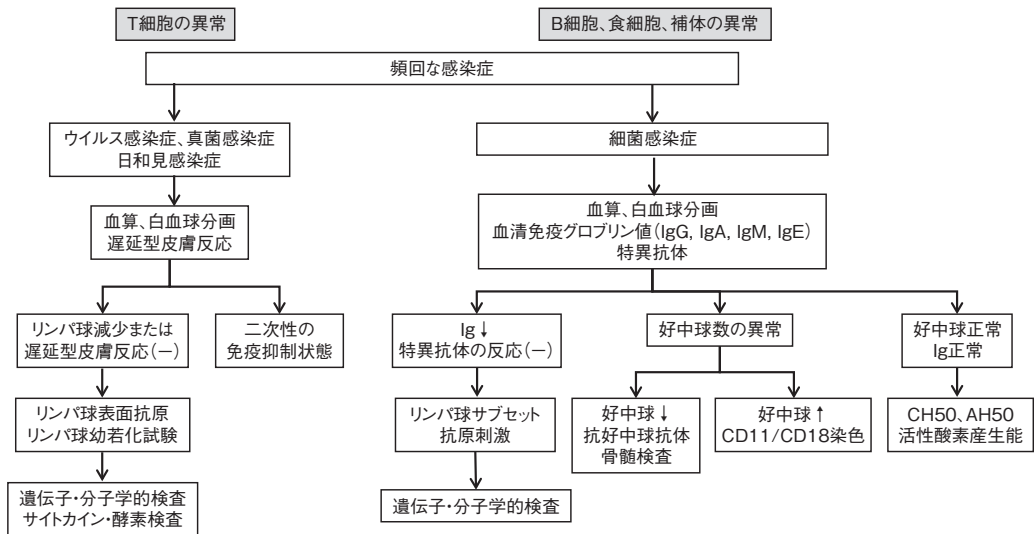


図 4 PID を疑った場合における一般検査のすすめ方 (文献 8) を引用、一部改変。

においてはさらに詳細なリンパ球サブセット解析が欠かせない。当科では Human Immunology Project Consortium が推奨する標準的なヒト免疫細胞サブセット同定法に準じて<sup>6)</sup>、LSRFortessa™ (Becton Dickinson 社) を用いた 10 color FACS 解析を実施している。表 1 に示す末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cell : PBMC) パネル、T 細胞分画を詳細に解析する T1, T2, T3 パネル、B 細胞分画を詳細に解析する B1, B3 パネル、樹状細胞をみる DC パネルの 7 パネルで解析を行っている。一般施設ではここまで詳細な解析は不要かもしれないが、PID の診断にあたっては少なくとも CD45RA<sup>+</sup>CD45RO<sup>-</sup> のメモリー T 細胞と CD45RA<sup>-</sup>CD45RO<sup>+</sup> のメモリー T 細胞ならびに CD27<sup>-</sup> のナイーブ B 細胞と CD27<sup>+</sup> のメモリー B 細胞分画だけはみておきたい。乳児では通常ほとんどがナイーブ T 細胞で構成されるが、もしメモリー T 細胞がほとんどを占める場合には T 細胞機能異常が存在する可能性が高い。分類不能型免疫不全症では末梢血 B 細胞が存在していても免疫グロブリン産生能を有するメモリー B 細胞が低下していることが多い。

フローサイトメトリーを利用することで PID を直接診断することが可能である。DHR123 を利用すれば CGD ならびに二次顆粒欠損症を診断することができる (図 5A)。フローサイトメトリーの利点は陰性細胞と陽性細胞における蛍光強度が異なるため二峰性パターンをとり、保因者診断が可能な点である。X連鎖 SCID は CD20<sup>+</sup> B 細胞における  $\gamma$ c 鎖 (CD132) の発現低下をもって診断可能である。2 カラー解析により、母親由来 T 細胞の混入も評価できる (図 5B)。XLA の原因蛋白である BTK は細胞内に存在するが、細胞を固定後、処理して細胞に穴を開けることによって細胞内蛋白の発現を調べることが可能である (図 5C)<sup>7)</sup>。PID の原因蛋白に対する感度ならびに特

異性の高いモノクローナル抗体があれば、WAS や X連鎖リンパ増殖症候群をはじめとする多くの PID で応用可能な検査である。フローサイトメトリーによる蛋白発現は単細胞レベルでの評価可能であり、前述の保因者診断に有用だけでなく、各細胞分画における発現レベルの違いを評価したり、体細胞変異に基づく正常蛋白の発現を二峰性パターンとして評価することにも有用である。FACS によって診断可能な主な PID を表 2 に示す<sup>8)</sup>。

#### IV. 遺伝子診断

PID のほとんどは単一遺伝子病であり、原因遺伝子が同定されている。主な PID はフローサイトメトリーで診断可能であるが、ミスセンス変異のため蛋白発現が正常にみえるものもあり、遺伝子診断は欠かせない。正確な遺伝カウンセリングを行うためにも遺伝子診断が必要である。

遺伝子解析の主流はキャピラリー電気泳動によるサンガーシーケンスである。目的の遺伝子を PCR で増幅して、そのまま遺伝子配列を読むことができる。ホモ接合体あるいはヘミ接合体変異は容易に解析可能であるが、ヘテロ接合体変異では正常：変異アレルが 50 : 50 であれば比較的簡単であるが、変異アレルの頻度が少ない場合には見逃されてしまうことがある。また PID の原因遺伝子が爆発的に明らかにされ、同じ臨床像をとりながら、複数の原因遺伝子によって発症することがある。そのため解析すべき遺伝子数が増えており、これまでのサンガーシーケンスでは非効率的であり、高コストとなる。

次世代シーケンシング (next-generation sequencing : NGS) と呼ばれる新しい DNA シーケンシング法が開発され、解析装置や試薬のコストダウ

表 1 当科における FACS パネル

蛍光色素	FITC	PE	ECD	PC5 PE/Cy5.5	PE/Cy7 PEVio770	APC	Alexa Fluor-700	APC- Vio770	Vio Blue	Vio Green
PBMC パネル	CD16	CD27	CD45RA	CD56	CD8	CD19	CD14	CD45RO	CD4	CD3
T1 パネル	TCRV $\alpha$ 24	TCRV $\beta$ 11	CD45RA	CD62L	CD8	CD31	CR7	CD45RO	CD4	CD3
T2 パネル	TCRV $\delta$	TCRV $\alpha\beta$	CD8	CD25	CCR4	CD127	-	-	CD4	CD3
T3 パネル	CD38	CCR6	-	CXCR5	CD161	CXCR3	HLA-DR	CD45RO	CD4	CD3
B1 パネル	CD38	CD24	-	IgM	CD10	CD21	CD5	-	CD19	CD20
B2 パネル	IgD	IgA	-	IgM	CD27	IgG	-	-	CD19	-
DC パネル	Lineage	CD123	HLA-DR	CD11c	CD83	CD303	-	-	CD45	-

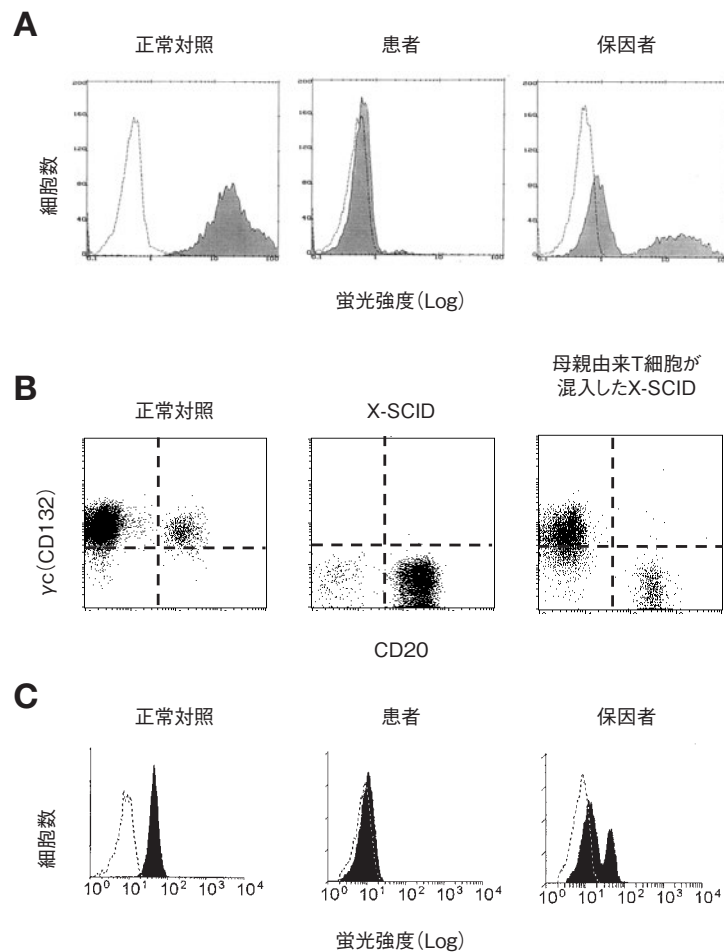


図5 フローサイトメトリーによるPIDの診断

**A** : CGD の患者・保因者診断。好中球をPMAで刺激した後のDHR123の取り込みをフローサイトメトリーで評価。患者では $H_2O_2$ 産生能が低下し、保因者では二峰性パターンとなる。

**B** : X連鎖SCIDの診断。患者ではCD20陽性B細胞における $\gamma$ c鎖(CD132)の発現が低下する。母親由来T細胞が混入した患者ではCD20陰性細胞(ほとんどがT細胞)における $\gamma$ c鎖の発現が正常である。

**C** : XLAの患者・保因者診断。単球におけるBTK蛋白の発現を示す。点線はコントロール抗体、黒塗り部分は抗BTKモノクローナル抗体による染色を示す。正常に比べて、患者ではBTK蛋白の発現低下が認められ、保因者では二峰性の発現を認める。

ンに伴って広く普及しつつある。いくつかの方法があるが、Illumina社のNGSでは、DNAをランダムに切断し、フローセルと呼ばれるスライドガラス上でDNA断片の増幅を行い、形成された断片の相補鎖を合成しながら配列を決定するSequence-by-Synthesis法によって、塩基配列を同時並行的に決定することができる(図6)。NGSの利点は網羅的な遺伝子解析に有用なのはもちろんであるが、少量の体細胞モザイクであっても定量性をもって検出可能である<sup>9)</sup>。NGSによって全エクソンさらには全ゲノム解析が短時間に可能となり、PIDをはじめとする多くの遺伝性疾患の原因遺伝子探索が行われるようになった。同じ臨床表現型を有する複数家系があ

ればなおさらであるが、例えば1家系でも患者と両親のトリオ検体がそろっていれば原因遺伝子同定に至ることもまれではない。近年全エクソン解析によって原因遺伝子が明らかになったPIDを表3に示す<sup>10)</sup>。現時点でPIDの原因遺伝子は300弱であるが、170の遺伝子をターゲットとしたNGSが開発されている<sup>11)</sup>。ターゲットシーケンスでは新奇原因遺伝子の同定はできないが、極めて短時間に網羅的な遺伝子解析が可能であることと、遺伝学的に問題となる偶発的な遺伝子変異の発見がないことという利点がある。今後低コスト化が進めば、臨床検査の一つとなり得るだろう。

表 2 FACS によって診断可能な PID

機能解析による
CGD (活性酸素産生能)
IRAK4/MYD88 欠損症 (TNF- $\alpha$ 産生能)
特異的細胞亜群
自己免疫性リンパ増殖症候群 (CD3 <sup>+</sup> TCR $\alpha/\beta$ <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup> T細胞増加)
X連鎖リンパ増殖症候群 (iNKT細胞低下)
細胞表面疾患特異的蛋白
X連鎖SCID ( $\gamma$ c鎖/CD132)
X連鎖高IgM症候群 (CD40L)
白血球接着不全症 (CD11/CD18)
CGD (gp91/p22-phox)
CD19/CD81欠損症 (CD19)
インターフェロン $\gamma$ レセプター 1欠損症 (IFN- $\gamma$ R1)
細胞内疾患特異的蛋白
XLA (BTK)
WAS (WASP)
X連鎖リンパ増殖症候群 (SAPおよびXIAP)
家族性血球貪食症候群 (パーフォリンおよびMUNC13-4)
IPEX (FOXP3)
CGD (p47-phoxおよびp67-phox)
DOCK8欠損症 (DOCK8)
X連鎖SCID (リン酸化STAT3)

( )内は検査内容を示す。

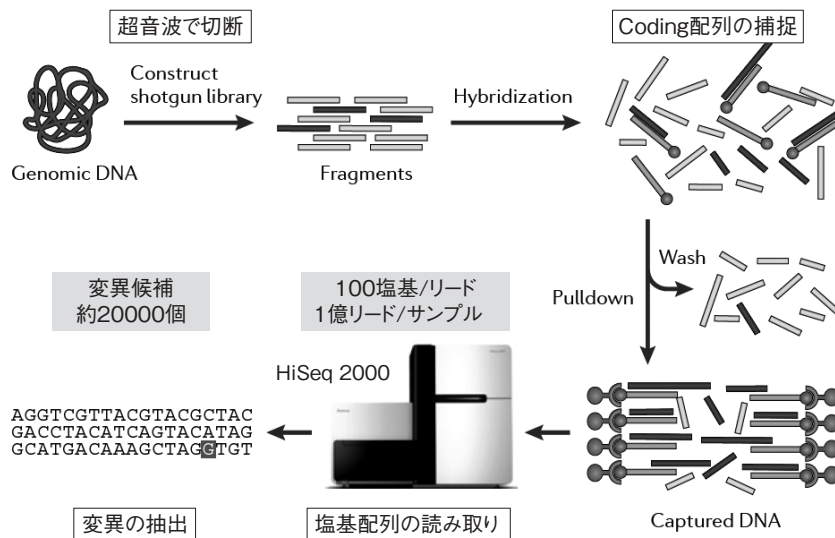


図 6 NGS による DNA シークエンシング

表 3 全エクソン解析で原因遺伝子が同定された PID

遺伝子名	PMID	発見年
<i>IL36RN</i>	21848462	2011
<i>MTHFD1</i>	21813566/23296427	2011
<i>ISG15</i>	22859821	2012
<i>PIK3R1</i>	22351933	2012
<i>PLCG2</i>	23000145	2012
<i>PRKCD</i>	23319571/23430113	2012
<i>CARD11</i>	23561803	2013
<i>PIK3CD</i>	24136356	2013
<i>RPSA</i>	23579497	2013
<i>TTC7A</i>	23830146	2013
<i>PGM3</i>	24589341	2014

文献8)より引用、一部改変。

## おわりに

PIDは比較的まれな疾患であるが、患者の予後改善のためには早期診断ならびに早期治療介入が欠かせない。「PIDを疑う10の徴候」を参考に日常診療のなかに紛れ込んでいるPIDを疑い、一般的検査でスクリーニングを行う。確定診断を行うためには専門家にコンサルトし、フローサイトメトリーならびに遺伝子解析による診断を行う。まだ原因不明のPIDも多く残され、NGSによる原因遺伝子探索が望まれる。PIDの原因遺伝子を知ることは患者のためはもちろんであるが、動物モデルでは知り得ない真のヒト免疫学の理解のために必要である。PIDが疑われ、専門家にコンサルトしたい場合にはPIDJ (<http://pidj.rcai.riken.jp/>)の相談フォームを利用して簡単にアクセス可能である。本稿がPIDの理解と患者QOLの向上に繋がることを期待したい。

## 文 献

- 1) Casanova JL, Abel L. Primary immunodeficiencies : A field of in its infancy. *Science*. 2007 ; **317** : 617-619.
- 2) Subbarayan A, Colarusso G, Hughes SM, et al. Clinical features that identify children with primary immunodeficiency diseases. *Pediatrics*. 2011 ; **127** : 810-816.
- 3) Patel NC, Hertel PM, Estes MK, et al. Vaccine-acquired rotavirus in infants with severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med*. 2010 ; **362** : 314-319.
- 4) Huppler AR, Bishu S, Gaffen SL : Mucocutaneous candidiasis : the IL-17 pathway and implications for targeted immunotherapy. *Arthritis Res Ther*. 2012 ; **14** : 217.
- 5) Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, et al. Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards. *Pediatrics*. 2009 ; **155** : 829-833.
- 6) Maecker HT, McCoy JP, Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the Human Immunology Project. *Nat Rev Immunol*. 2012 ; **12** : 191-200.
- 7) 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*. 1998 ; **91** : 595-602.
- 8) Locke BA, Dasu T, Verbsky JW. Laboratory diagnosis of primary immunodeficiencies. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2014 ; **46** : 154-164.
- 9) Izawa K, Hijikata A, Tanaka N, et al. Detection of base substitution-type somatic mosaicism of the NLRP3 gene with >99.9% statistical confidence by massive parallel sequencing. *DNA Res*. 2012 ; **19** : 143-152.
- 10) Raje N, Soden S, Swanson D, et al. Utility of next generation sequencing in clinical primary immunodeficiencies. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014 ; **14** : 468.
- 11) Nijman IJ, van Montfrans JM, Hoogstraal M, et al. Targeted next-generation sequencing : a novel diagnostic tool for primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2014 ; **133** : 529-534.