

Mendelian susceptibility to mycobacterial diseasesの 早期診断法の確立および新規遺伝子検索の試み



九州大学病院 助教 保科 隆之

【研究の背景と目的】

結核菌などの抗酸菌をはじめとする細胞内寄生菌に対して選択的に易感染性を示す症候群は、Mendelian susceptibility to mycobacterial disease (MSMD, MIM209950) と総称されている。臨床的にはBCG菌をはじめとする非結核性抗酸菌による難治性、再発性の感染症が特徴である。細胞内寄生菌に対する免疫応答には、主にマクロファージや樹状細胞が関与しており、細菌が侵入すると、これらの細胞よりinterleukin (IL)-12が分泌され、T細胞などに発現しているIL-12受容体に結合する。続いて、IL-12受容体を介したシグナルと提示された抗原によるT細胞受容体からのシグナルによりinterferon (IFN)- γ が分泌され、マクロファージ上のIFN- γ 受容体に結合する。その結果、細胞内のsignal transducer and activator of transcription (STAT)-1がリン酸化され、核内に移行し、tumor necrosis factor (TNF)- α 、IL-12などの遺伝子が発現し、貪食細胞が活性化され、抗酸菌排除が誘導される。このIFN- γ /IL-12経路の先天的な免疫異常により、細胞内寄生菌に対し易感染性を呈する。現在までに、IFN- γ receptor 1 (IFN- γ R1)、IFN- γ R2、IL-12p40、IL-12 receptor β 1 (IL-12R β 1)、STAT-1の5分子の遺伝子異常が報告されてきたが、近年さらに、CD40を介したnuclear factor (NF)- κ B経路の活性化に関与している分子であるNF- κ B-essential Modulator (NEMO)、顆粒球やマクロファージおよび樹状細胞の分化に関与するInterferon regulatory factor 8 (IRF8) およびマクロファージによる貪食に関連しているNADPH oxidaseのサブユニットであるgp91phoxをコードしているCYBBの遺伝子異常でも細胞内寄生菌に対し易感染性を示すことが明らかになっている。

過去に日本におけるMSMDの臨床的特徴および遺伝的背景に関する検討は行われておらず、早期診断のためのスクリーニングも行われていない。本研究は、日本におけるMSMDの疫学の検討および遺伝子異常の早期スクリーニングの確立を行うことを目的とした。

【日本のMSMDに関する疫学研究】

BCG菌をはじめとした非結核性抗酸菌感染と診断した46例について検討した。この46例の起炎菌としてはBCG菌が最も多かった(表1)。患者は男性が多く、細胞内寄生菌による感染症が原因で死亡した症例はいなかった。遺伝子異常を認めたのは7例であり、IFN- γ R1異常症が6例、NEMO異常症例が1例だった(表2)。これらの症例のうち6例(85.7%)は、抗酸菌感染症に複数回罹患しており、骨髄炎を発症した6症例では、病巣が複数だった。このことから、遺伝子異常を認めた症例は、認めなかった症例と比較して重篤であることが示唆された(表3)。

表1 起炎菌の内訳と感染巣

	遺伝子異常あり	遺伝子異常なし	合計
	No. (%)	No. (%)	No. (%)
起炎菌*			
BCG	3 (42.9)	35 (89.7)	38 (82.6)
<i>M. avium</i> complex	1 (14.3)	3 (10.2)	4 (8.7)
BCG + <i>M. avium</i> complex	2 (28.5)	0 (0)	2 (4.3)
<i>M. avium</i> complex + <i>M. tuberculosis</i>	1 (14.3)	1 (2.6)	2 (4.3)
感染巣**			
osteomyelitis/arthritis	7 (43.8)	24 (55.8)	31 (52.5)
lymphadenitis	8 (50.0)	8 (18.6)	16 (27.1)
dermatitis/subcutaneous abscess	3 (18.8)	11 (25.6)	14 (23.7)
pulmonary abscess	0 (0)	2 (4.7)	2 (3.4)

* 遺伝子異常あり群は7例、遺伝子変異なし群は39例

** 合計59エピソード(遺伝子異常あり群16、遺伝子異常なし群43)

表2 遺伝子変異を認めた症例の特徴

症例	性別	診断時年齢	発症年齢	診断までの感染歴	遺伝子異常
1	男	1y9m	8m	BCGリンパ節炎、肝腫大 BCG多発骨髄炎	<i>IFNGR1</i> 818del4
2	男	41y	36y	結核性リンパ節炎2回 MAC多発骨髄炎	<i>IFNGR1</i> 818del4
3	男	2y	2y	BCG多発骨髄炎	<i>IFNGR1</i> 818del4
4	女	1y7m	10m	BCGリンパ節炎、皮膚炎 BCG多発骨髄炎	<i>IFNGR1</i> 811del4
5	男	19y	4m	BCG皮膚炎、リンパ節炎 BCG多発骨髄炎 MAC皮下膿瘍、骨髄炎	<i>IFNGR1</i> E278X
6	女	12y	6m	BCGリンパ節炎 MAC多発骨髄炎	<i>IFNGR1</i> 774del4
7	男	10y	10m	結核性リンパ節炎 非結核性抗酸菌症 MAC多発リンパ節炎 敗血症、肺炎4回頸部リンパ節炎2回	<i>NEMO</i> E315Q

症例2は症例1の父親

表3 遺伝子変異の有無による違い

	遺伝子変異あり (n=7)	遺伝子変異なし (n=39)
発症年齢	10 (4-36)	14 (4-75)
男女比	2.5: 1	1.8: 1
家族歴あり(人)	2	0
発症までの期間 (BCG感染症例)	9.5 (7-15, n=4)	10 (1-46, n=35)
複数罹患歴あり(%)	85.7*	7.7
骨髄炎多発病変例(%)	100* (n=6)	4.2 (n=24)

* $p < 0.001$

【MSMD患者における遺伝子異常の早期スクリーニング】

IFN- γ R1異常症と診断した症例では、単球/マクロファージ表面のIFN- γ R1の高発現を認める。また、NEMO異常症と診断した症例では、lipopolysaccharide刺激後の単球/マクロファージからのTNF- α 産生能が低下している。これらをフローサイトメトリーで確認し、両遺伝子異常の早期スクリーニング法を確立した (図1、2)。

図1 単球表面のIFN- γ R1発現

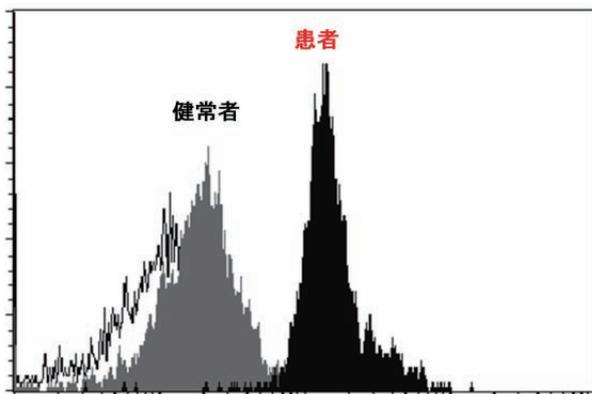
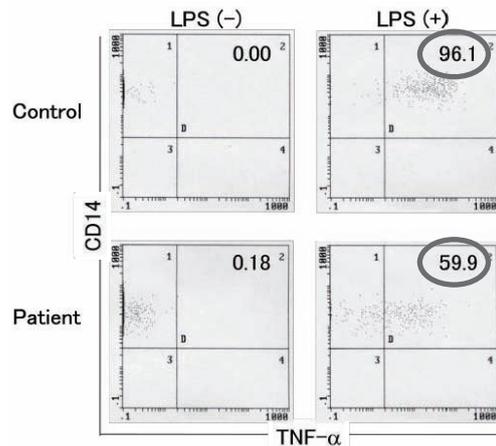


図2 LPS刺激による単球内TNF- α 産生能



これらに加えて、IL-12R β 1異常症ではT細胞表面のIL-12R β 1の発現が低下していることをフローサイトメトリーで確認する方法を確立し、IFN- γ レセプターおよびIL-12レセプターからのシグナル伝達にかかわる蛋白のリン酸化を検出することによる診断法も開発したが、本研究期間中にこれらの方法でスクリーニングを行い遺伝子異常が新たに判明した症例はいなかった。

【新規MSMD原因遺伝子の検索】

我々は、MSMDと診断された症例の中で、既知の遺伝子異常を認めなかった症例について、cDNAマイクロアレイを用いた末梢血単核球mRNA発現の網羅的な解析を行い、これらの症例において発現が特異的に亢進または低下している分子を同定し、その結果を基に新しい原因遺伝子を解明することを計画したが、新たな遺伝子異常を同定することはできなかった。