

本件の報道解禁につきましては、平成 30 年 4 月 5 日（木）13 時以降（日本時間）に
お願いいたします。

国立大学法人 広島大学
国立研究開発法人 日本医療研究開発機構

**稀な免疫不全症、活性化 PI3K-delta 症候群（APDS）の迅速診断法を開発
～APDS 患者の効果的な治療法の提供に貢献～**

【本研究成果のポイント】

- ・ 活性化 PI3K-delta 症候群（APDS）は、2013 年に報告された新しい免疫の病気で、既にわが国で 30 名以上の患者の存在がわかっています。
- ・ フローサイトメトリー（※1）を用いた、APDS（※2）の迅速診断法の確立に成功しました。
- ・ APDS 患者では、血液中の B リンパ球（※3）で AKT（※4）のリン酸化状態が変化していることを発見しました。
- ・ APDS 患者では、分子標的薬（PI3K 阻害薬など）が有効な場合があるため、迅速かつ正確な診断のニーズが高まっています。今回開発した迅速診断法が、APDS 患者の診断に役立つことが期待されます。

【概要】

本研究で対象とする活性化 PI3K-delta 症候群（APDS）は先天的な免疫の病気であり、この病気を持つ患者は、気管支炎や肺炎、副鼻腔炎などの感染症を繰り返します。APDS 患者では、体内に侵入した病原体を排除するリンパ球の減少や、細菌やウイルスから体を守る抗体の産生障害（IgG 低下、IgM 増加）があり、そのため、細菌やウイルスに容易に感染すると考えられています。さらに APDS 患者は稀に、全身のリンパ節の腫れがコントロールできず、生命の危険に脅かされることがあります。近年、分子標的治療薬（PI3K 阻害薬など）が有効であることが明らかとなり、臨床に利用できる本疾患の迅速かつ正確な診断の重要性が高まっています。一方で APDS は、別の先天的な免疫の病気〔高 IgM 症候群（HIGM）、分類不能型免疫不全症（CVID）〕と症状が類似していることから、APDS の患者が HIGM や CVID と診断されている可能性や、あるいは、未だ APDS と診断されずに原因不明とされている場合もあります。そのため、APDS の適切な診断法の確立は、本疾患患者を正確かつ早期に同定し、診断するための有用なツールとなり、さらには、効果的な治療法の提供に結びつきます。

この度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）の支援（難治性疾患実用化研究事業、課題名「原発性免疫不全症の診断困難例に対する新規責任遺伝子の同定と病態解析」）を受け、小林正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究科小児科学教授）、岡田賢（同講師）、浅野孝基（同大学院生）らの研究グループは、東京医科歯科大学、防衛医科大学、岡山大学、長崎大学、金沢大学、かずさ DNA 研究所との共同研究で、APDS 患者の迅速診断法の開発に成功しました。本研究で我々は、APDS 患者では血液中の B リンパ球で AKT のリン酸化が変化していることを発見しました。この発見に基づき、フローサイトメトリーという機器を用いて B リンパ球における AKT のリン酸化状態を解析することで、APDS 患者を迅速に診断する方法を世界で初めて確立しました。

本研究成果は、4月5日（木）13時（日本時間）、「Frontiers in immunology」で公開される予定です。

<論文発表>

論文タイトル：Enhanced AKT phosphorylation of circulating B cells in patients with activated PI3K δ syndrome.

共著者：Takaki Asano, Satoshi Okada*, Miyuki Tsumura, Tzu-Wen Yeh, Kanako Mitsui-Sekinaka, Yuki Tsujita, Youjiro Ichinose, Akira Shimada, Kunio Hashimoto, Taizo Wada, Kohsuke Imai, Osamu Ohara, Tomohiro Morio, Shigeaki Nonoyama, Masao Kobayashi

*Corresponding Author(責任著者)

【背景】

活性化 PI3K-delta 症候群 (APDS)は先天性な免疫の病気で、この病気を持つ患者は、気管支炎や肺炎、副鼻腔炎などの感染症を繰り返します。APDS 患者では、体内に侵入した病原体を排除するリンパ球の減少や、細菌やウイルスから体を守る抗体の産生障害(IgG 低下、IgM 増加)があり、そのため、細菌やウイルスに容易に感染すると考えられています。APDS は先天性な遺伝子異常により、細胞の分化、増殖などに重要な役割を果たす PI3 キナーゼ (PI3K) の機能が過剰になることで発症します。APDS は 2013 年に報告された新しい免疫の病気ですが、既に 30 症例以上の患者がわが国で同定されています。そのため APDS は稀な疾患であるものの、先天性な免疫の病気の中では比較的頻度が高い疾患であると考えられます。APDS 患者は稀に、全身のリンパ節の腫れがコントロールできず、生命の危険に脅かされることがあります。近年、それらの患者に分子標的治療薬 (PI3K 阻害薬など) が有効であることが明らかとなり、本疾患の迅速かつ正確な診断の重要性が高まっています。

一方で APDS は、別の先天性な免疫の病気 [高 IgM 症候群 (HIGM)、分類不能型免疫不全症 (CVID)] と症状が類似していることから、本来 APDS と診断されるべき患者が HIGM や CVID と診断されている場合や、あるいは、未だ APDS と診断されずに原因不明とされている場合が危惧されており、その診断は容易ではありません。そのため、APDS 患者に対する適切な診断法の確立は、本疾患患者を正確に同定し、診断するための有用なツールとなり、さらには、効果的な治療法の提供に結びつくことが期待されます。

こういった背景を踏まえて我々は、APDS 患者の適切な診断を目的として、フローサイトメトリーを用いて APDS 患者細胞に特徴的な所見を利用した迅速診断法の確立を試みました。迅速診断法を確立することで、APDS 患者の診断を容易にし、適切な診断に基づく治療方針決定に貢献することを最終的な目的としました。

【研究成果の内容】

PI3K は、下流に存在する AKT のリン酸化状態をコントロールすることで、細胞の分化、増殖を制御しています。APDS 患者では、PI3K が過剰に活性化していることが知られていたことから、我々は AKT のリン酸化状態に着目して研究を行いました。フローサイトメトリーを用いて、血液中のリンパ球における AKT のリン酸化を解析したところ、APDS 患者の B リンパ球では AKT のリン酸化が著明に亢進している (AKT が過剰にリン酸化されている) ことが明らかとなりました。他方で、免疫能が正常な健常者や、APDS と鑑別が必要な HIGM、CVID の患者では、B リンパ球における AKT のリン酸化の変化は認められず、この現象は APDS 患者でのみ認める特徴的な所見と考えました。APDS 患者で認めた B リンパ球における AKT のリン酸化の亢進は、PI3K 阻害薬で処理すると正常化することも判明しました (図 1)。

次に、この B リンパ球における AKT のリン酸化の程度を、MFI (Mean Fluorescence Intensity) (※5) という指標を用いて数値化を試みました。具体的には、PI3K 阻害薬の処

理の前後で MFI 値を測定し、両者の差 (Δ MFI) を算出することで、AKT のリン酸化の亢進の程度を数値化しました。その結果、APDS 患者群において有意に AKT のリン酸化が亢進していることが確かめられました (図 2)。これらの一連の結果から、我々は血液中の B リンパ球に着目して AKT のリン酸化状態をフローサイトメトリーで数値化し比較検討することで、APDS 患者の迅速診断が可能であることを明らかとしました (図 3)。

【今後の展開】

本研究で我々のグループは、フローサイトメトリーを用いた、APDS 患者の迅速診断法を開発しました。本法を用いることで、過去に未診断であった APDS 患者を迅速に診断し、適切な診断に基づく治療方針決定に貢献できると考えています。

【用語解説】

※1：フローサイトメトリー：細胞を懸濁させた液体を細胞が一行になるように流れる状態にし、1個1個の細胞にレーザー光を照射して分析することで、細胞の情報を測定する方法。

※2：Activated PI3K δ syndrome (APDS)：反復呼吸感染、リンパ球減少、抗体産生障害 (IgM 増加、IgG 低下)、EB ウイルス・サイトメガロウイルスに対する易感染性を特徴とする先天的な免疫の病気。

※3：B リンパ球：抗体産生を行い、免疫応答に関わるリンパ球。骨髄で産生される。

※4：AKT：細胞の分化、増殖などに重要な役割を果たす PI3K 経路の中心的役割を果たす分子でセリン/スレオニンキナーゼと呼ばれるタンパク質のグループに属する。刺激により AKT タンパク質にリン酸が付与されることで AKT タンパク質が活性化し、様々なタンパク質との相互作用が導かれ、その結果、細胞の機能が変化する。AKT は PI3K 経路の中心的役割を果たすため、その異常は細胞が元来有する機能を変化させる場合がある。

※5：MFI (Mean Fluorescence Intensity)：フローサイトメトリーの結果を評価する際に用いる、細胞1個あたりの蛍光強度。

【参考図】

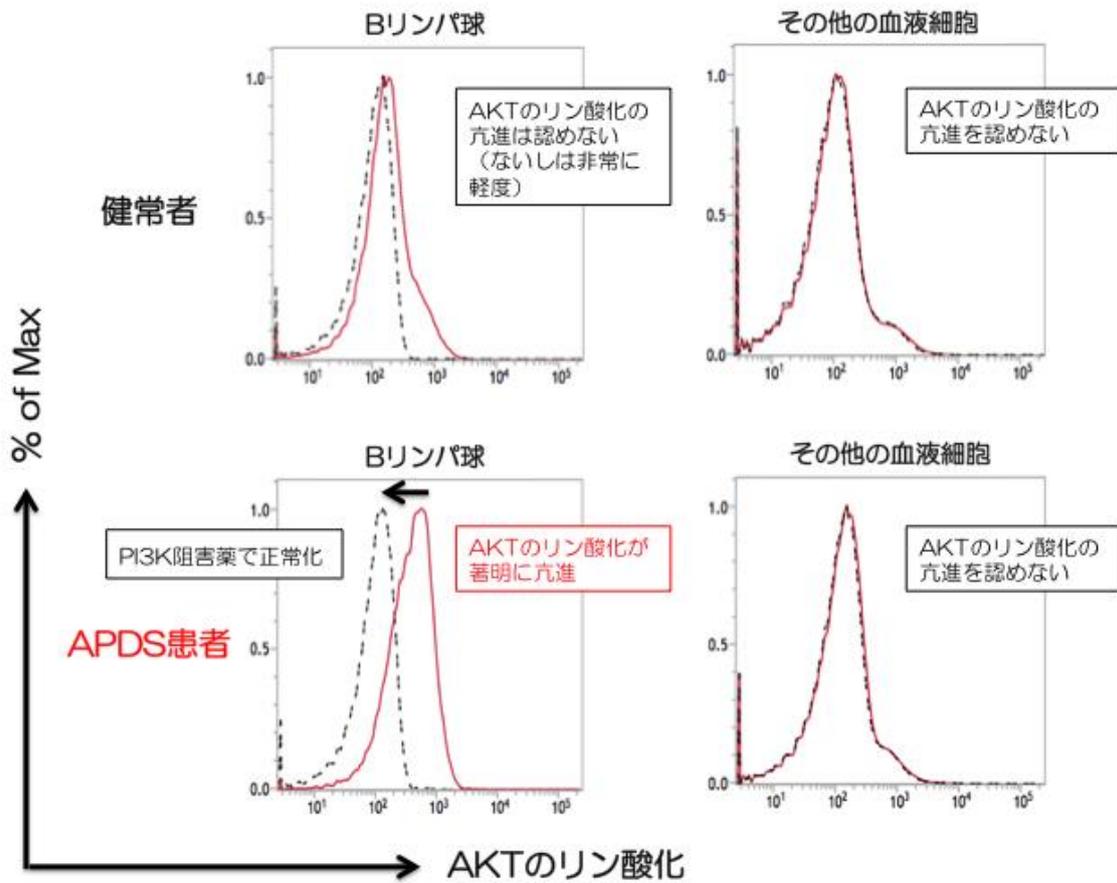


図 1 : B リンパ球における細胞内 AKT のリン酸化解析
 赤実線 : PI3K 阻害薬処理前、黒点線 : PI3K 阻害薬処理後
 APDS 患者では、定常状態で細胞内 AKT のリン酸化の亢進を認める。

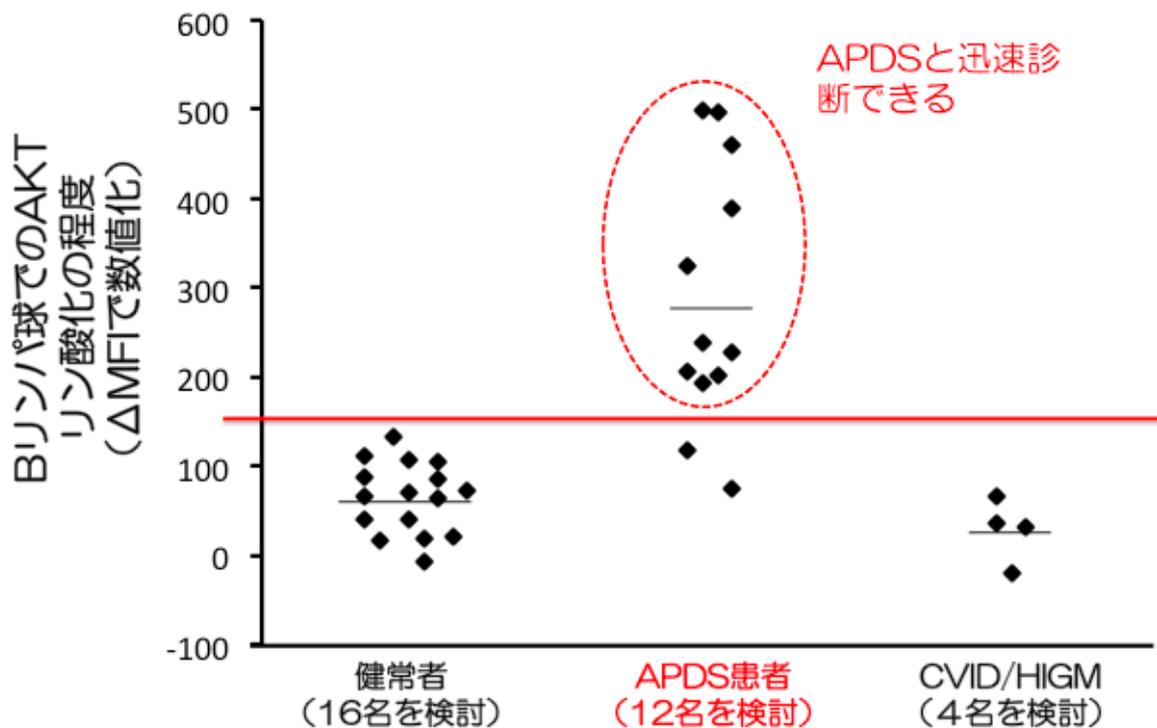


図 2 : ΔMFI による AKT のリン酸化状態の比較
 APDS 患者群において、健常者、CVID/HIGM 患者群と比較して有意に ΔMFI 値が高値を示した。

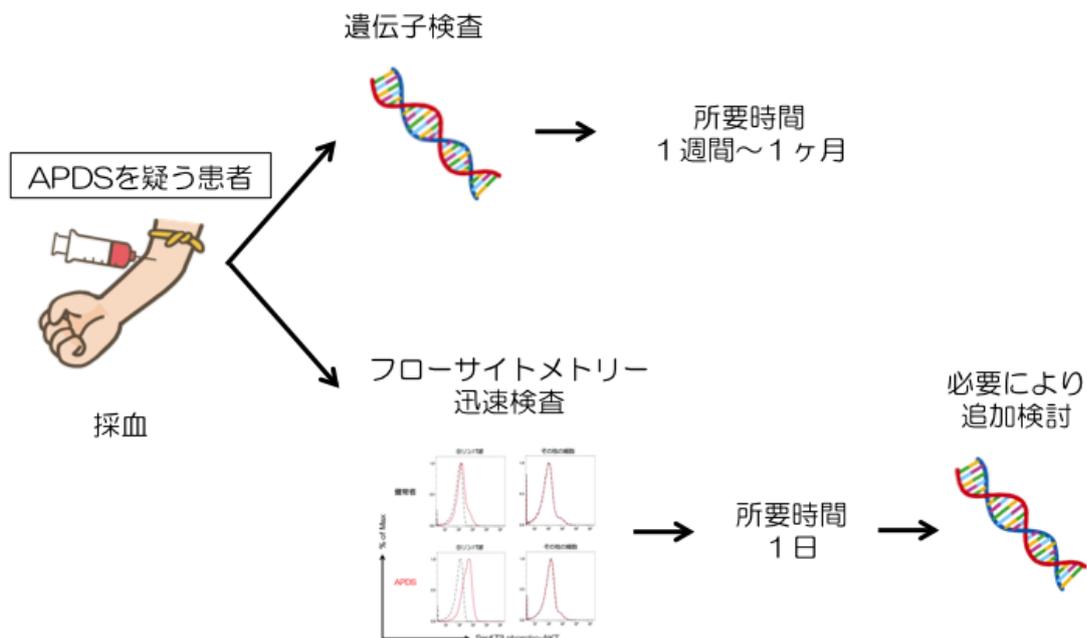


図3：フローサイトメトリーを用いた APDS 迅速診断フローチャート

【お問い合わせ先】

広島大学大学院医歯薬保健学研究科 医学講座 小児科学研究室
 Tel：082-257-5212 FAX：082-257-5214
 E-mail：sokada@hiroshima-u.ac.jp

<AMED事業に関するお問い合わせ>
 国立研究開発法人日本医療研究開発機構
 戦略推進部 難病研究課
 東京都千代田区大手町1-7-1
 TEL：03-6870-2223
 E-mail：nambyo-info@amed.go.jp

発信枚数：A4版 5枚（本票含む）