

論文内容要旨

Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K δ Syndrome

(Activated PI3K δ syndrome 患者末梢血 B 細胞に
おける AKT の過剰リン酸化)

Frontiers in Immunology, 9: 568, 2018.

主指導教員：小林 正夫 教授
(医歯薬保健学研究科 小児科学)

副指導教員：秀 道広 教授
(医歯薬保健学研究科 皮膚科学)

副指導教員：川口 浩史 准教授
(医歯薬保健学研究科 小児科学)

浅野 孝基

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K δ Syndrome

(Activated PI3K δ syndrome 患者末梢血B細胞におけるAKTの過剰リン酸化)

Activated PI3K δ syndrome (APDS)は、反復呼吸器感染、リンパ球減少、血中Bリンパ球前駆細胞増加、ガンマグロブリン産生異常 (IgM増加、IgG2減少)、EBウイルス、サイトメガロウイルスに対する易感染性、リンパ濾胞過形成等を臨床的特徴とし、PI3キナーゼ (PI3K) の過剰活性化を病因とする原発性免疫不全症として同定された。PI3Kは細胞の分化/増殖、生存、代謝シグナルを制御する酵素である。Class IのPI3Kはヘテロ二量体からなり、触媒サブユニットp110 δ (責任遺伝子 *PIK3CD*) と調節サブユニット p85 α (責任遺伝子 *PIK3R1*) の二量体が白血球において重要な役割を果たしている。2013年に *PIK3CD* 遺伝子の機能獲得型変異によりAPDS1が発症することが報告され、2014年には、*PIK3R1* のヘテロ接合性変異により類似した症状を呈するAPDS2が報告された。また、2016年には、同じPI3K経路の *PTEN* のヘテロ接合性変異により類似の症状を呈するAPDS-like (APDS-L) の発症が報告された。APDS1/APDS2 (APDSs)、APDS-Lは、近年同定された疾患概念であるが、本邦において既に30例以上の患者が集積されている。そのためAPDSs、APDS-Lは稀少疾患であるものの、原発性免疫不全症の中では比較的頻度が高いと考えられ、迅速かつ適切な診断法の確立が必要である。

本研究では、APDS1, 4例; APDS2, 4例; APDS-L, 4例; 他の抗体産生不全症, 5例; 健常者, 24例を対象として、CD3⁺ T細胞、CD19⁺ B細胞、CD14⁺ 単球、CD16⁺ CD56⁺ NK細胞における、無刺激での細胞内AKTのリン酸化をフローサイトメトリーで検討した。AKTは細胞の分化/増殖、生存、代謝に重要な役割を果たすPI3K経路において中心的役割を果たすセリン/スレオニンキナーゼである。APDSsとAPDS-L患者では、無刺激での細胞内AKTのリン酸化亢進がB細胞においてのみ認められ、このAKTのリン酸化亢進は、p110 δ 阻害薬処理にて抑制されることが確認された。一方で、B細胞以外の細胞分画では、健常者、抗体産生不全症例とAPDSs/APDS-L患者間で、細胞内AKTのリン酸化の差異は認められなかった。B細胞における細胞内AKTの亢進をMean Fluorescence Intensity (MFI)を用い、p110 δ 阻害薬処理の前後で細胞内AKTリン酸化の変化量 (Δ MFI) を算出し比較検討した。 Δ MFIはAPDSs患者群において、健常者、他の抗体産生不全症と比較して有意に高値を示した。また、APDSs患者間で比較すると、APDS2がAPDS1、APDS-Lと比較して有意に Δ MFI高値を示した。しかしながら、一部の Δ MFIが低めに算出されたAPDSs患者において、 Δ MFIが高めに算出された健常者、他の抗体産生不全症例との間でオーバーラップが認められた。APDSs患者では、末梢血、骨髄でtransitional B細胞が増加する特徴があることから、CD10⁺CD19⁺ immature B細胞 (transitional B細胞に相当) とCD10⁻CD19⁺ mature B細胞に分画して、細胞内AKTのリン酸化を検討した。患者群では、CD10⁺CD19⁺ immature 細胞では細胞内AKTのリン酸化の亢進はより顕著と

なり、B細胞全体での解析でみられたAKTリン酸化の Δ MFIのオーバーラップは解消された。これらから、フローサイトメトリーを用いて、CD19⁺ B細胞、CD10⁺CD19⁺ immature B細胞におけるAKTリン酸化の Δ MFIを測定することで、APDSs/APDS-L患者の迅速診断が可能となることが示唆された。

本研究では、フローサイトメトリーを用いた簡便な検査法と遺伝子解析を併用することで、APDS患者群の正確な診断が可能となることを明らかとした。今後、リンパ球におけるAKTのリン酸化亢進とAPDSの病態との関係ならびに治療への関与を明らかにする必要がある。