

第 42 回日本小児感染症学会シンポジウム 1

Wiskott-Aldrich 症候群の分子病態からみた
感染症と WIP の役割

笹原 洋 二*

要旨 Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) は, WASP 遺伝子変異により発症する X 染色体連鎖性原発性免疫不全症である。WASP は造血細胞に発現し, 特に T 細胞受容体シグナル伝達系にて T 細胞活性化と細胞骨格系を制御する。近年の基礎的および臨床的な WAS 研究の蓄積により, 免疫不全の分子病態や臨床所見との相関がより明らかとなった。この総説では, WAS における分子病態の知見をまとめ, WAS 患者における感染症との関連性について論じる。次に筆者らは WIP (WASP-interacting protein) が WASP 蛋白質安定化に重要であることを示した。これは WAS 症例における WASP ミスセンス変異が WIP 結合領域に集中している論拠となった。最後に, 常染色体性 WAS としての WIP 欠損症発見の可能性について論じる。

はじめに

Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) は, 多様な免疫不全, 血小板減少, 湿疹を 3 主徴とする X 染色体連鎖性原発性免疫不全症で, その原因遺伝子は WASP である¹⁾。免疫不全の詳細は多岐にわたるが, その根底には WASP 遺伝子変異に伴う, 細胞骨格系の異常があると考えられている²⁾。現在まで WASP の機能や結合蛋白質に関して数多くの報告がなされており, そのなかの WIP (WASP-interacting protein) はわれわれの共同研究者によりクローニングされた WASP 結合蛋白質である³⁾。本稿では WAS の診断および感染症にかかわる分子病態を概説し, WIP が WAS の分子病態にいかにかかわっているかを論じる。

I. WAS の責任遺伝子

WAS の責任遺伝子である WASP は Xp11.22 に存在し, 12 エクソンよりなり, 501 個のアミノ酸をコードしている。図 1 にその一次構造と結合蛋白質群を示す。現在まで多くの遺伝子異常が報告されており, これらをまとめると図 2 のように理解される。エクソン 5 以降の C 末は mRNA レベルで不安定となる変異 (ナンセンス変異や挿入, 欠失など) が主である点, N 末のエクソン 1~4 に集中しており, その多くはミスセンス変異である点が特徴である。同じ WASP 遺伝子の異常によって, 免疫不全を伴わず血小板減少のみを呈する X 染色体連鎖性血小板減少症 (X-linked thrombocytopenia : XLT) が発症し, 治療抵抗性特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) や他の血小板減少を伴う疾患群との鑑別が重要となるが, XLT の多く

Key words : Wiskott-Aldrich 症候群, WASP, WIP, T 細胞受容体シグナル伝達系

* 東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野
〔〒 980-8575 仙台市青葉区星陵町 2-1〕

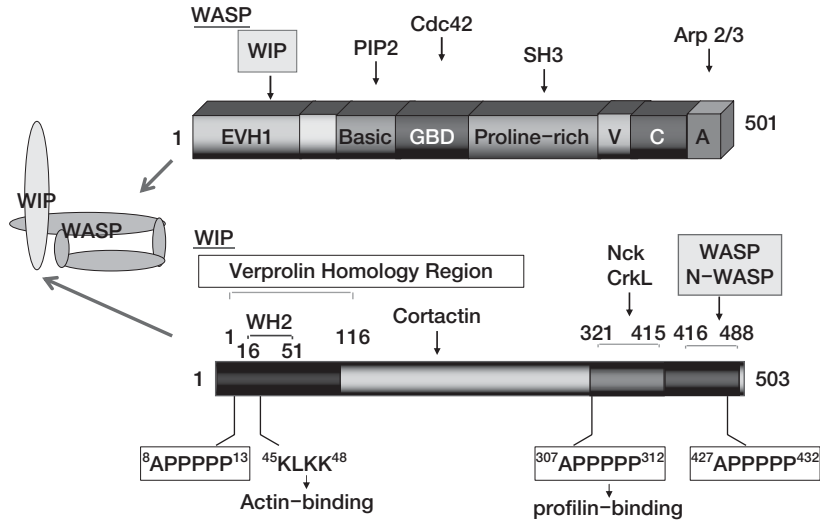


図 1 WASP および WIP 蛋白質の機能的ドメイン

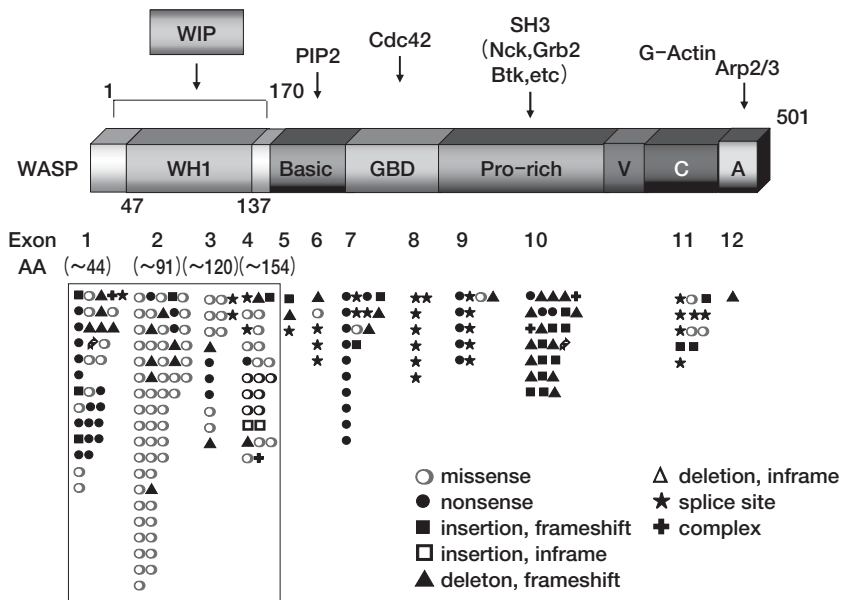


図 2 WASP ミスセンス変異は WIP 結合領域に集中している

は N 末のミスセンス変異である。

II. WAS における感染症の特徴

免疫不全の程度や臨床経過は多様であり、これにはリンパ球分画における WASP 蛋白質の発現パターンが基礎になっている。易感染性の程度も症例により異なり、WASP 蛋白質発現がない症例は重症化の傾向にある⁴⁾。その要旨を表 1 にまと

めた。XLT を除き、古典的 WAS は乳幼児期から中耳炎、肺炎、副鼻腔炎、皮膚感染症、髄膜炎などを反復する。起炎菌としては肺炎球菌やブドウ球菌が多く、真菌感染ではカンジダ、アスペルギルスが、原虫ではカリニ肺炎が少数で見られる。ウイルス感染では、ヘルペス属ウイルス感染症 (HSV, VZV, CMV, EBV) が多いのが特徴である。

表 1 WAS における感染症

1. 古典的 WAS は、乳児期より中耳炎、肺炎、皮膚感染症、感染性腸炎、敗血症を反復し、難治性である。
2. 起炎菌
 - 1) 肺炎球菌、ブドウ球菌
 - 2) カンジダ、アスペルギルス
 - 3) ヘルペスウイルス属感染症が多い
HSV, VZV, CMV, EBV
3. 症例により重症度は異なる。
 - 1) リンパ球で WASP 蛋白質発現のない症例は、重症化の傾向がある。
 - 2) 易感染性のない XLT 症例が存在する。

III. WAS における免疫不全

WAS における免疫不全は多彩である。これは、WASP が造血幹細胞を含めて、すべての造血細胞に発現し機能しているためである。これまでの WAS における免疫不全の知見を表 2 にまとめた。そのなかで、spontaneous reversion の症例での増殖優位性から、T 細胞と NK 細胞が免疫不全の主体を担っていると考えられる。易感染性を呈する例では T 細胞の mitogen や T 細胞受容体 (TCR) 刺激への反応性は低下する例が多い⁵⁾。近年 WAS 患者における Th1 への分化を制御する転写因子の発現に WASP が必要であることが示された。NK 活性は低下する例が多いとする報告がある⁶⁾。B 細胞では免疫グロブリンは従来から、IgG 正常、IgM 低下、IgE 上昇とされるが、症例や年齢、感染の合併により異なる。抗多糖類抗体価などの特異抗体産生は低下する。好中球遊走能は低下する例が多い。

IV. 確定診断法

上記のような臨床所見の多様性から、確定診断には WASP 遺伝子異常を同定することが不可欠である。現在、フローサイトメトリー法による細胞内 WASP 蛋白質検出を、末梢血単核球各分画 (T 細胞, B 細胞, NK 細胞) にて行う方法が確立しており、最も迅速であり、スクリーニング法として有用である^{7,8)}。当研究室で確立したモノクローナル抗体と方法で、三菱化学への外注検査が可能であり、当科でコメントをつけて結果をお渡

表 2 WAS における免疫不全

1. 多彩である (WASP はすべての造血細胞系列に発現)
2. T 細胞機能不全
 - ・ T 細胞受容体 (TCR) シグナル伝達系刺激後および免疫学的シナプス形成時の、アクチン重合化異常と IL-2 産生低下
 - ・ Th1 < Th2 バランスの異常
 - ・ Treg の減少
3. NK 細胞機能不全
 - ・ 悪性腫瘍合併が高頻度
4. B 細胞機能不全
 - ・ 多糖類抗原 (肺炎球菌) への抗体産生不全, 低 IgM 血症
 - ・ 末梢性 B 細胞の分化障害
5. 好中球走化性の低下

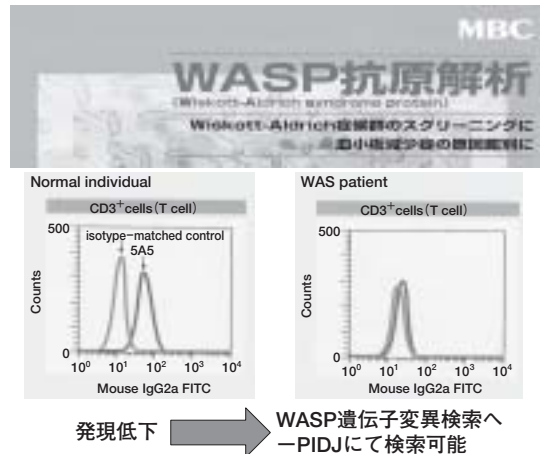


図 3 WASP 蛋白質フローサイトメトリー法による診断のスクリーニング

している (図 3)。この方法により、各血球分画での WASP 発現が確認でき、移植後の WASP 蛋白質発現の推移やキメラ状態の把握、経過中の spontaneous reversion の症例の検索にも有用である。WASP 蛋白質発現がないか減少している例に対して末梢血を用いて WASP 遺伝子の変異解析を行うが、現在は PIDJ にて可能である。

V. WASP 蛋白質発現量と長期予後

わが国での WAS 症例の解析から、リンパ球における WASP 蛋白質の発現の有無が有意に予後と相関する。重症例は WASP 蛋白質が発現してお

表 3 WIP (WASP-interacting protein) の機能

- | |
|---|
| 1. WIP は Arp2/3 complex を介した WASP によるアクチン重合化を <i>in vitro</i> において負に制御する。 |
| 2. WIP は WASP の免疫学的シナプスへのリクルートに重要な役割を果たす。
(Sasahara Y, et al : Mol Cell, 2002) |
| 3. WIP は WASP 蛋白質の安定化に必要不可欠である。
(Sasahara Y, et al : PNAS, 2007) |

ず、ナンセンス変異、欠失、挿入変異が多い。XLT を含む軽症例では WASP 蛋白質は検出感度以上に発現している例が多く、ミスセンス変異例が多い。血小板での WASP 蛋白質の発現は全例検出感度以下であり、WASP 異常症のほぼ全例が血小板減少を伴い、初発症状となることと相関する。

VI. WAS の分子病態における WIP の役割

1. WIP の機能的構造

図 1 に WIP の一次構造とその結合分子群を示す。1997 年に WIP が同定されて以来³⁾、これらと相同性をもつ分子群が次々と同定され、WASP ファミリー、WIP ファミリーを形成するようになった。

表 3 に WIP の機能をまとめた。以下にそのおのおのについて述べる。

2. WASP の免疫学的シナプスへのリクルートの分子機構

個体において感染後などの免疫応答には、細胞間相互作用は重要である。免疫担当細胞において TCR やインテグリンシグナル伝達系の刺激により supramolecular activation clusters (SMACs) が形成され、抗原提示細胞と T 細胞間の免疫学的シナプス (immunological synapse : IS) と呼ばれる細胞間相互作用の概念が構築されている。IS 形成の際には、アクチン重合化を主とする細胞骨格系が変化し、その過程において WASP はかかわっていると考えられる。この WASP の IS へのリクルートには ZAP-70 分子自身とその活性の必要性が示されており、その下流ではいくつかの redundancy をもって制御されていると考えられ、WIP はその一部を担っていることが示された⁹⁾。同様に、NK 細胞とその標的細胞間での IS へも

WASP がリクルートされ、NK 細胞活性に重要であること、WAS 患者では NK 細胞活性が低下していることが示された⁶⁾。

3. WIP は WASP 蛋白質安定化に不可欠である

筆者らは WIP ノックアウトマウスの表現型を検索中に、予期しない現象が認められた。WASP ノックアウトマウスと表現型が類似しており、腸炎の発症など両者の類似性がわかってきた。そこで、WASP 蛋白質の発現量をみたところ、WIP ノックアウトマウスでは野生株の 10% 以下に低下しており、mRNA の発現は同等であったことから、WIP は WASP 蛋白質の安定性に不可欠な分子であることを発見した¹⁰⁾。その後の解析から WIP は WASP 活性化後の蛋白質分解のメカニズムから WASP を保護する分子シャペロンとして機能することが示された¹⁰⁾。

4. WIP が WAS の分子病態にいかにかかわっているか

WIP ノックアウトマウスでの WASP 蛋白質不安定化は、臨床的にどのような意味があるのかを検討した。図 2 にこれまで報告のあった WAS 患者における WASP 変異をまとめたが、WIP 結合領域である N 末のエクソン 1~4 に集中している点の特徴であり、その多くがミスセンス変異である。ミスセンス変異による恒常的な WASP-WIP 結合の解離により、WIP ノックアウトマウスと同様に、WASP は WIP による蛋白分解からの保護が受けられず、WASP 蛋白質発現量が低下することが発症の原因となると考えられた。実際、臨床的にこれらの症例は軽症例や免疫不全を伴わない XLT の場合が多く、T 細胞などの免疫担当細胞にごくわずかに残存する WASP が臨床的には宿主の免疫能として十分なのかかもしれない。ただし、全例で血小板減少を伴うのは、すべての症例で血小板での WASP の発現量は感度以下であり、核がないため蛋白合成ができずカルパインの発現が豊富な血小板での環境が反映されているのではないかと考えている。

5. WIP 欠損症のスクリーニング

現在筆者らは、これまでの研究成果を基盤として、表 4 に示した根拠から、WIP 欠損症のスクリーニングを継続している。WIP が WASP 蛋白質

表 4 わが国における WIP 欠損症のスクリーニング

1. WIP 蛋白質は, WASP 蛋白質の安定に重要である.
2. WASP と WIP ノックアウトマウスの表現型が類似している.
3. WIP 遺伝子はヒトでは常染色体上にコードされる.

↓

対象症例として

- ・性別を問わず
 - ・WAS 様の臨床経過があり
 - ・WASP 蛋白質発現レベルが減少している
 - ・WASP 遺伝子異常が同定できない
- 常染色体性-または type 2-WAS

の安定性に重要な役割を果たしている点¹⁰⁾, WIP ノックアウトマウスと WASP ノックアウトマウスとの表現型が類似し¹¹⁾, WIP 遺伝子はヒトでは常染色体にコードされている点を根拠として, 性別を問わず WAS 様の臨床経過が認められるにもかかわらず, WASP 蛋白質発現が低下していながら, WASP 遺伝子異常が同定されない症例を対象に行っている. 常染色体性 WAS あるいは type-2 WAS としての新しい疾患概念を確立すべく, 対象症例があれば, ぜひ筆者までご連絡いただければ共同で解析を進めたいと考えている.

おわりに

WASP 遺伝子の発見¹⁾以来 17 年の間に多くの知見が集積されているが, 多様な免疫不全の病態を示す WAS には依然未解決な点も多い. WIP は WASP の分子シャペロンとして共同して細胞骨格系や T 細胞活性化を制御するが, 現在 WIP 独自の機能解析が進行中である. WIP による WASP 蛋白質の安定化の知見は, WAS 患者でなぜ WASP ミスセンス変異が WIP 結合領域に集中しているかという臨床面から生じた疑問への解答になり, 現在の WIP 欠損症のスクリーニングへ進展した. これが WAS の分子病態や遺伝子治療の理解の一助になれば幸いである.

本論文執筆にあたり, 東北大学加齢医学研究所発達病態研究分野および東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野の先生方, Dr. Geha および Dr.

Ramesh をはじめとするハーバード大学医学部小児科学教室, ポストン小児病院免疫学部門の研究員の方々に改めて感謝いたします.

本論文の論旨は, 第 42 回日本小児感染症学会シンポジウム 1 (平成 22 年 11 月, 仙台) において発表した.

文 献

- 1) Derry JMJ, Ochs HD, Francke U : Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. *Cell* 78 : 635-644, 1994
- 2) Ochs HD, Thrasher AJ : The Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 117 : 725-738, 2006
- 3) Ramesh N, Anton IM, Geha RS, et al : WIP, a protein associated with Wiskott-Aldrich syndrome protein, induces actin polymerization and redistribution in lymphoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 14671-14676, 1997
- 4) Imai K, Morio T, Nonoyama S, et al : Clinical course of patients with WASP gene mutations. *Blood* 103 : 456-464, 2004
- 5) Gallego MD, Santamaria M, Pena J, et al : Defective actin reorganization and polymerization of Wiskott-Aldrich T cells in response to CD3-mediated stimulation. *Blood* 90 : 3089-3097, 1997
- 6) Orange JS, Sasahara Y, Strominger JL, et al : Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for NK cell cytotoxicity and colocalizes with actin to NK cell-activating immunological synapses. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 11351-11356, 2002
- 7) Kanegane H, Sasahara Y, Kawai S, et al : X-linked thrombocytopenia identified by flow cytometric demonstration of defective Wiskott-Aldrich syndrome protein in lymphocytes. *Blood* 95 : 1110-1111, 2000
- 8) Kawai S, Sasahara Y, Tsuchiya S, et al : Flow cytometric demonstration of intracytoplasmic Wiskott-Aldrich syndrome protein in peripheral lymphocyte subpopulations. *J Immunol Methods* 260 : 195-205, 2002
- 9) Sasahara Y, Rachid R, Geha RS, et al : Mechanism of recruitment of WASP to the immunological synapse and of activation following TCR ligation. *Mol*

Cell 10 : 1269-1281, 2002

- 10) de la Fuente MA*, Sasahara Y*, Ramesh N, et al : WIP is a chaperone for Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP). Proc Natl Acad Sci USA 104 : 926-931, 2007

* contributed equally to this work

- 11) Curcio C, Pannellini T, Anton IM, et al : WIP null mice display a progressive immunological disorder that resembles Wiskott-Aldrich syndrome. J Pathol 211 : 67-75, 2007

Molecular pathogenesis for infectious diseases and roles of WIP in Wiskott-Aldrich syndrome

Yoji SASAHARA

Department of Pediatrics, Tohoku University Graduate School of Medicine

Wiskott-Aldrich syndrome (WAS) is an X-linked primary immunodeficiency caused by Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) gene mutations. WASP is predominantly expressed in hematopoietic cells and regulates the reorganization of actin cytoskeleton in response to T cell receptor stimulation. WASP is localized at the immunological synapses between T cells and antigen presenting cells. Recently, regulation of WASP functions by its binding molecules, molecular basis of immunological defects and prediction of clinical outcome in WAS patients have been revealed based on both basic and clinical research. In this article, I review recent advances for molecular pathogenesis that link to frequent infections in WAS patients. Next I report the significance of WASP-interacting protein, WIP, as a molecular chaperone for WASP. WIP plays important roles in the regulation of WASP protein stability in T cells. Protection of WASP by WIP from protein degradation explains the reason why most of WASP missense mutations in WAS patients are in WIP-binding site. Finally I discuss the possibility of autosomal type of WAS caused by WIP deficiency.

* * *