

本邦初の大規模な重症複合免疫不全症(SCID)に対する TREC/KREC 新生児マススクリーニング検査 ～重症複合免疫不全症の新生児に対する早期診断と治療介入が予後を改善～

名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学の高橋 義行 教授、村松 秀城 講師、若松 学 助教（筆頭著者）、藤田医科大学医学部小児科学の伊藤 哲哉 教授、愛知県健康づくり振興事業団健診事業部の酒井 好美 検査課長らの研究グループは、2017 年から愛知県で出生した新生児に対して、全国に先駆けて重症複合免疫不全症（severe combined immunodeficiency; SCID）^{※1}に対する新生児マススクリーニング検査を開始しました。2021 年までに、約 14 万例にスクリーニング検査を行い、2 例の SCID 患者を診断し、造血細胞移植^{※2}へとつなげることで救命することができました。SCID は、さまざまな病原体から体を守る T リンパ球^{※3}がうまく働かないため、新生児期から重篤な感染症を発症する最重症の原発性免疫不全症です。根治的な治療法である造血細胞移植を早期に行われなければ、生後 1 年以内に亡くなります。海外では、T リンパ球が産生される際につくられる T-cell receptor excision circle (TREC) を用いた新生児マススクリーニング検査が広く行われていますが、本邦では SCID は未だ公的な新生児マススクリーニング検査の対象疾患に含まれていません。

また海外の一部の地域では、TREC 測定に加えて、B リンパ球^{※4}が産生される際につくられる Kappa-deleting recombination excision circle (KREC)の測定や網羅的遺伝子解析を組み合わせた新生児マススクリーニング検査が行われていますが、その有用性について十分に評価されていませんでした。

そこで我々は、2017 年 4 月から 2021 年 12 月に愛知県内で出生した 137,484 例の新生児に対して、TREC と KREC を測定しました。結果、TREC もしくは KREC に異常値を 145 例に認め、精密検査として次世代シーケンサー (NGS)^{※5}を用いた網羅的遺伝子解析を行い、SCID 2 例 (68,742 人に 1 人) (IL2RG-SCID と細網異形成症)、T もしくは B リンパ球の欠損を伴う SCID 以外の免疫不全症 (non-SCID PIDs) 10 例 (13,748 人に 1 人) を診断しました。2 例の SCID は、診断後すみやかに感染予防を行い、適切な時期に造血細胞移植を行うことにより、救命することができました。今回の取り組みは、本邦で初めて行われた大規模な SCID に対する新生児マススクリーニング検査となります。網羅的遺伝子解析を組み合わせた TREC と KREC による新生児マススクリーニング検査は、SCID だけでなく、non-SCID PIDs の早期診断・治療につながり、臨床的にも非常に有用でした。この愛知県での取り組みが日本全国に広がり、将来的には公的な新生児マススクリーニング検査に組み込まれ、より多くの SCID 患者の命が救われることが期待されます。

本研究成果は「Journal of Clinical Immunology」(2022 年 7 月 28 日付電子版)に掲載されました。

ポイント

○重症複合免疫不全症（SCID）は、生後早期に重篤な感染症を発症し、根治的な治療が行われないと生後 1 年以内に致命的となる免疫不全症です。

○愛知県で出生した新生児を対象に、全国に先駆けて 2017 年から SCID に対する新生児マススクリーニング検査を開始し、2021 年までに約 14 万例のスクリーニング検査を行いました。これまでに、2 例の SCID が早期診断され、適切な時期に造血細胞移植を行うことで救命につながりました。

○新生児マススクリーニング検査に網羅的遺伝子解析を組み合わせることで、SCID だけでなく他の免疫不全症の新生児の診断にもつながりました。

1. 背景

新生児マススクリーニングは、知らずに放置しておくとも命にかかわるような疾患を、症状が出現する以前に見つけて予防する取り組みです。新生児期にスクリーニング検査を行うことで、対象となる疾患の患児を早期に診断し、治療介入を行い、健常な新生児と同じような生活を送ることができるようになります。重症複合免疫不全症（SCID）は、T リンパ球がうまく機能しないために重篤な感染症を発症する原発性免疫不全症の一つです。根治的な治療法である造血細胞移植が適切な時期に行われない場合、生後 1 年以内に重篤な感染症により致死的な経過を辿ります。重篤な感染症を発症する以前に SCID を診断・治療介入するための新生児マススクリーニング検査が、海外では広く行われています。米国のカリフォルニア州では、正常な T リンパ球が新たに作られるときにできる T-cell receptor excision circle（TREC）の測定を約 300 万人の新生児に対して実施し、およそ 5 万人あたり 1 人の新生児を SCID と診断することができたと報告しています。日本ではこれまで公的な新生児マススクリーニング検査の対象疾患に SCID は含まれておらず、家族例を有する症例以外は全例、重篤な感染症を発症したのちに診断され、治療成績は満足できるものではありませんでした。

近年、次世代シーケンサー（NGS）を用いた網羅的遺伝子解析が、原発性免疫不全症の診断に有用であることが示されています。しかし、SCID に対する新生児マススクリーニング検査陽性例に対する精密検査の一部として網羅的遺伝子解析を活用することについては、十分に評価されていません。また、海外のいくつかの国・地域から B リンパ球産生のマーカーである Kappa-deleting recombination excision circles（KREC）を TREC と同時に測定する取り組みが報告されているものの、KREC 測定の偽陽性率の高さと費用の増加から、KREC の同時測定の是非は議論が分かれています。

そこで我々は、SCID を生後早期に診断・治療介入するために、2017 年 4 月から本邦で初めて TREC を用いた SCID に対する新生児マススクリーニング検査を、愛知県内で出生した新生児を対象に、有料のオプションスクリーニング検査として開始しました。また、2020 年 4 月からは TREC と同時に KREC の測定も行いました。期間中に、愛知県で出生した全新生児の約半数が、本スクリーニング検査を受けました（2021 年では、54,891 人中 32,846 人、59.8%）。スクリーニング陽

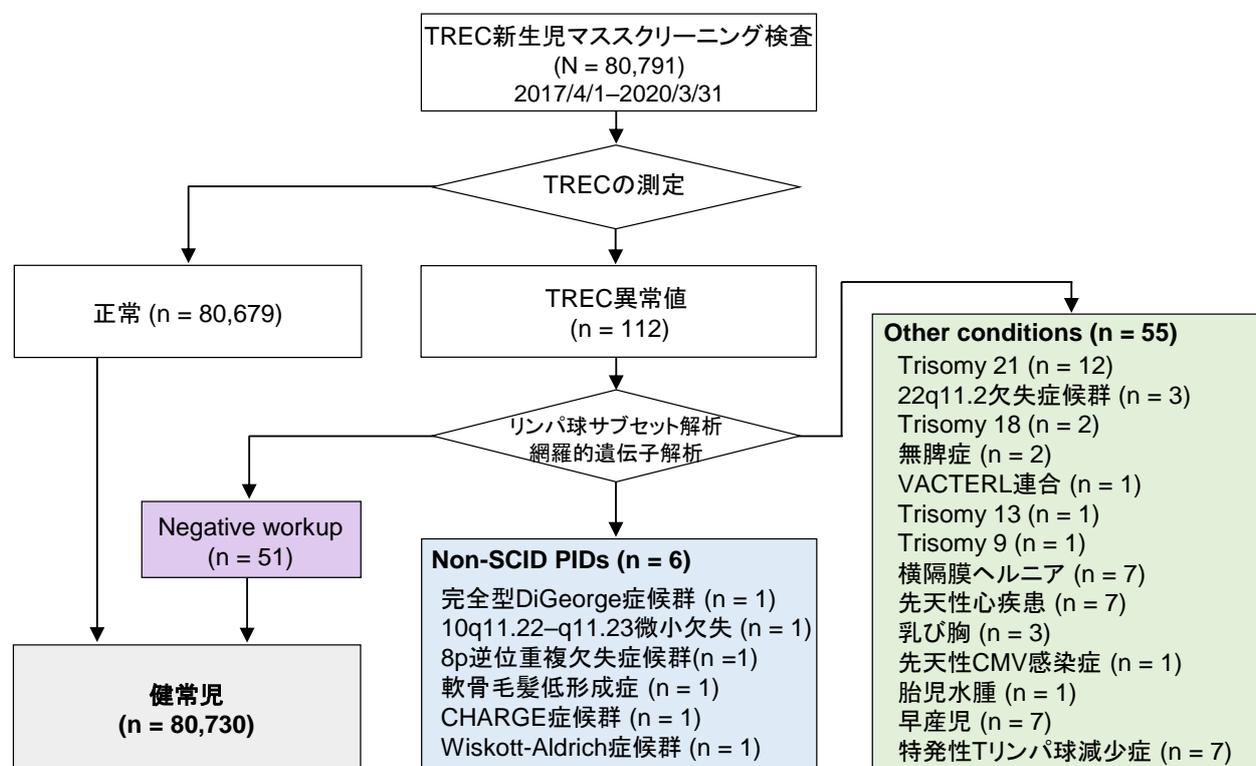
性例は、精密検査としてリンパ球サブセット解析と免疫不全症に関する網羅的遺伝子解析を行いました。本スクリーニング検査は、名古屋大学大学院医学系研究科小児科学、藤田医科大学医学部小児科学、愛知県健康づくり振興事業団が協力して行いました。

2. 研究成果

TREC および、KREC による新生児マススクリーニング検査

2017年4月から2020年3月に、TREC 測定用キットを用い、80,791 例の新生児に対して TREC の測定を行いました。80,791 例の新生児のうち、TREC の異常値を認める新生児は 112 例 (0.14%) でした。そのうち、79 例に対して、免疫不全症に関連する網羅的遺伝子解析を行い、SCID 以外の免疫不全症患者 (non-SCID PIDs) を 6 例診断しました。内訳は、完全型 DiGeorge 症候群、10q11.22-q11.23 微小欠失、8p 逆位重複欠失症候群、軟骨毛髪低形成症、CHARGE 症候群、Wiskott-Aldrich 症候群を 1 例ずつ診断しました (図 1A)。

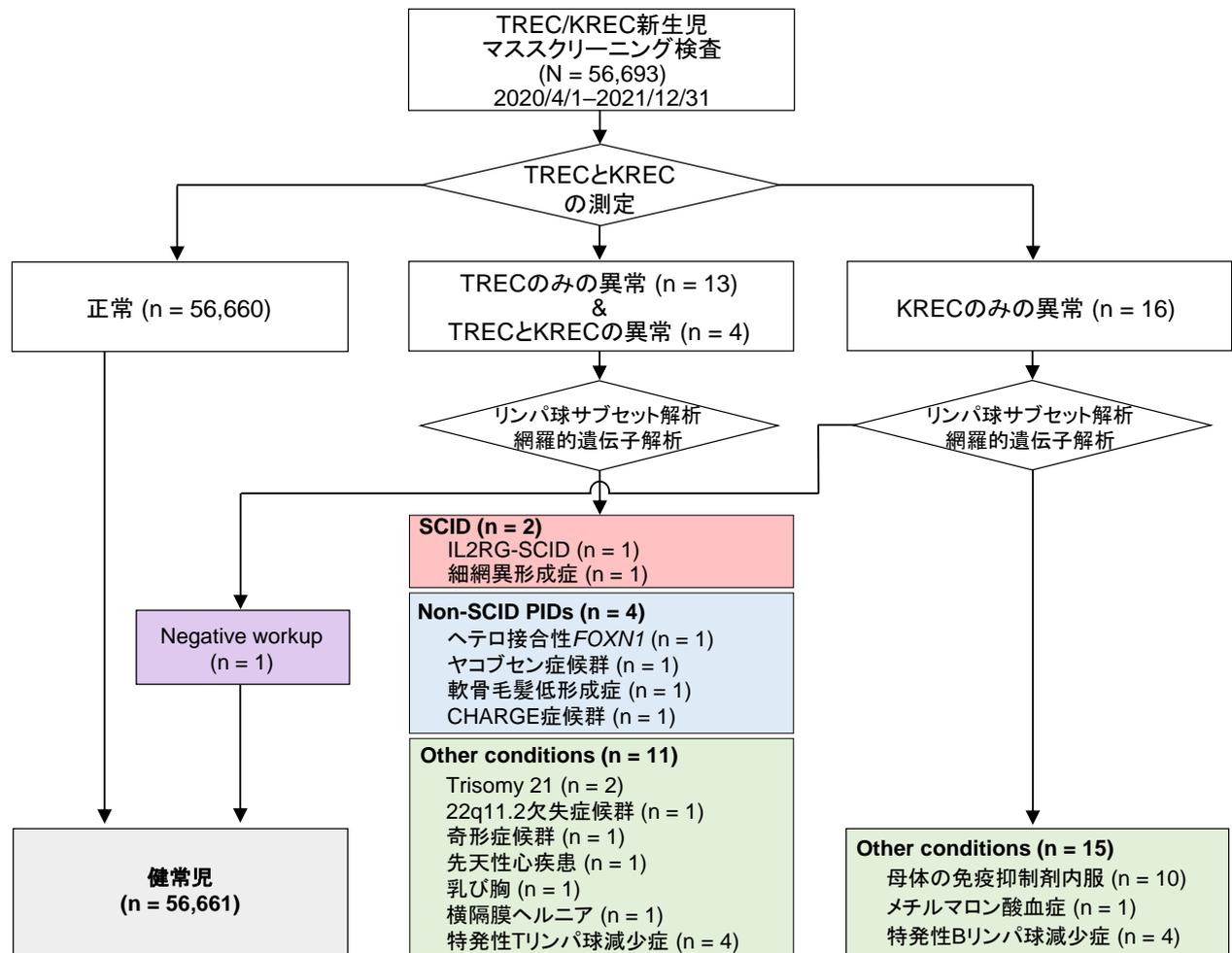
図1A. TREC新生児マススクリーニング検査



次に、2020年4月から TREC/KREC 測定用キットに切り替えて、TREC と同時に KREC の測定を行い、Tリンパ球だけでなく、Bリンパ球も同時に評価しました。結果、2021年12月までに 56,693 例の新生児に対して TREC と KREC を測定し、33 例 (0.058%) で TREC もしくは KREC の異常値を認めました。このうち、TREC と KREC の両方が異常値 4 例、TREC のみ異常値 13 例、KREC のみ異常値 16 例が含まれました。スクリーニング陽性であった 33 例のうち、25 例 (76%) に免疫不全症に関連する網羅的遺伝子解析を行い、2 例の SCID (IL2RG-SCID と細網異形成症)、4 例の non-SCID PIDs (ヘテロ接合型 FOXP1 遺伝子変異に関連する胸腺低形成、軟骨毛髪低形成症、CHARGE 症候群、およびヤコブセン症候群) を診断しました (図 1B)。今回、KREC

のみ異常値を認めた 16 例に、B リンパ球のみに異常を認める免疫不全症と診断された患者はいませんでした。

図1B. TREC/KREC新生児マススクリーニング検査



SCID

137,484 例の新生児のうち、2 例（68,742 人に 1 人）が SCID（IL2RG-SCID と細網異形成症）と診断しました。一方、T および/または B リンパ球の欠損を伴う免疫不全症（non-SCID PIDs）として、10 例（13,748 人に 1 人）を診断しました。

IL2RG-SCID の児は、生後 4 日で測定した TREC（1 コピー/ μ L）が低値で名古屋大学医学部附属病院に紹介されました。リンパ球サブセット解析で、 $T^+B^+NK^-$ SCID の表現型を示し、ヘミ接合性 *IL2RG* 遺伝子変異を認め、IL2RG-SCID と診断しました。患児は、生後 4 か月に臍帯血移植（CBT）^{※6}を行い、ナイーブ T リンパ球^{※7}の増加を認めています。

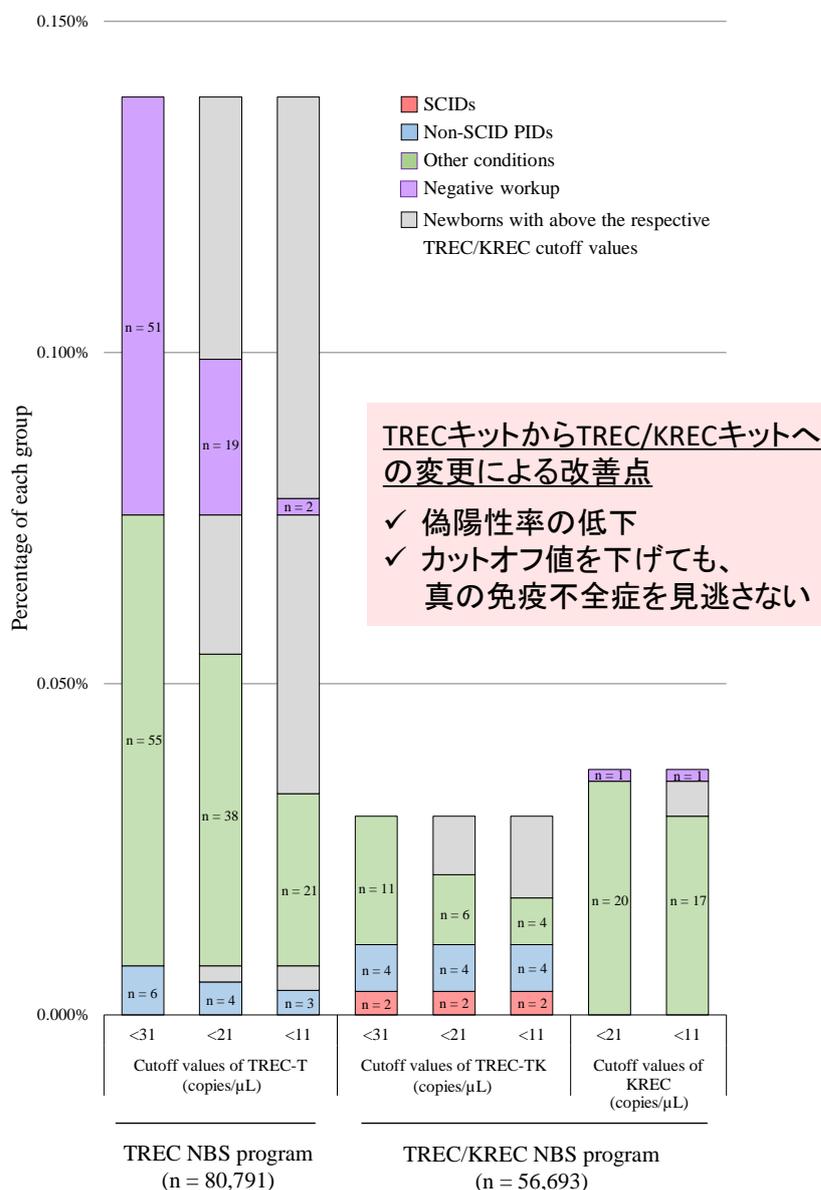
細網異形成症の児は、生後 4 日で測定した TREC（0 コピー/ μ L）、KREC（0 コピー/ μ L）が低値で、生後 6 日目に同病院に紹介されました。リンパ球サブセット解析で $T^+B^-NK^-$ SCID の表現型を示し、遺伝子解析にて複合ヘテロ接合型の *AK2* 遺伝子変異を認め、細網異形成症と診断しました。患児は、生後半年で CBT を行い、好中球の生着に続いて、ナイーブ T リンパ球の増加を認め、感染を認めることなく、元気に過ごされています。

TREC と TREC/KREC キットの性能比較

次に、2017 年から使用した TREC キットと 2020 年から導入した TREC/KREC キットの性能を比較するために、2,841 例の正常新生児、6 例の non-SCID PIDs、2 例の SCID の乾燥ろ紙血を用いて、両者のキットで測定した TREC 値を検討しました。TREC/KREC キットで測定した TREC (TREC-TK) 値は、TREC キットで測定した TREC (TREC-T) 値と有意に相関を認め ($P < 0.001$)、特に TREC-TK 値が低値の場合 (< 61 copies/ μ L) に強い相関関係を認めました。さらに、患者 48 例において TREC-T と TREC-TK 値は、 $CD4^+CD45RA^+$ ナイーブ T リンパ球と中等度の相関を認めることを示しました。

最後に、それぞれのキットにおける SCID と non-SCID PIDs に対する精密検査率と偽陽性率を比べました。TREC/KREC キット (TREC-TK) は、TREC キット (TREC-T) と比較して、精密検査率 (0.138% [n = 112] vs. 0.058% [n = 33], $P < 0.001$) と偽陽性率 (0.131% [n = 106] vs. 0.019% [n = 11], $P < 0.001$) がどちらも有意に低くなることを確認しました (図 2)。

図2. TRECキットとTREC/KRECキットの性能比較



3. 今後の展開

愛知県で大規模に開始した SCID に対する新生児マススクリーニング検査を通じて、SCID 新生児の早期診断に成功し、重篤な感染症に罹患することなく造血細胞移植へ繋げることができました。スクリーニング検査に網羅的遺伝子解析を組み合わせることで、non-SCID PIDs の診断にも貢献しました。全国に先駆けて、愛知県で開始した SCID に対する新生児マススクリーニング検査は、国内の他の地域にも広がりつつあります。今後は、日本全国の新生児がこの新生児マススクリーニングの恩恵を受けられるように、公的マススクリーニングの対象疾患として SCID が一日も早く指定されることを期待しています。

4. 用語説明

- ※1 重症複合免疫不全症(SCID)； T または B リンパ球が欠損し、重篤な感染症を発症する原発性免疫不全症。
- ※2 造血細胞移植； 自分またはドナーから事前に採取した幹細胞を点滴で投与すること。
- ※3 T リンパ球； 抗原を提示する細胞と連携し、免疫反応を調整するリンパ球。
- ※4 B リンパ球； 抗原や T リンパ球を介した刺激により、抗体産生を行うリンパ球。
- ※5 次世代シーケンサー (NGS)； 数千から数百万もの DNA 分子を同時に配列決定できる技術。
- ※6 臍帯血移植 (CBT)； 臍帯血の造血幹細胞を移植し、造血機能を正常にする治療。
- ※7 ナイーブ T リンパ球； 抗原にさらされたことのない T リンパ球。

5. 発表雑誌

掲雑誌名：Journal of Clinical Immunology

論文タイトル：TREC/KREC Newborn Screening followed by Next-Generation Sequencing for Severe Combined Immunodeficiency in Japan

著者：Manabu Wakamatsu, MD, PhD¹, Daiei Kojima, MD, PhD², Hideki Muramatsu, MD, PhD¹, Yusuke Okuno, MD, PhD³, Shinsuke Kataoka, MD, PhD¹, Fumiko Nakamura⁴, Yoshimi Sakai⁴, Ikuya Tsuge, MD, PhD⁵, Tsuyoshi Ito, MD⁶, Kazuto Ueda, MD⁷, Akiko Saito, MD, PhD⁷, Eiji Morihana, MD⁸, Yasuhiko Ito, MD⁹, Naoki Ohashi, MD, PhD¹⁰, Makito Tanaka, MD, PhD⁵, Taihei Tanaka, MD¹¹, Seiji Kojima, MD, PhD¹, Yoko Nakajima, MD, PhD⁵, Tetsuya Ito, MD, PhD⁵, and Yoshiyuki Takahashi, MD, PhD¹

所属名：

¹Department of Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

²Department of Pediatrics, Ogaki Municipal Hospital, Ogaki, Japan

³Department of Virology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya, Japan

⁴Department of Clinical laboratory, Aichi Health Promotion Public Interest Foundation, Nagoya, Japan

⁵Department of Pediatrics, School of Medicine, Fujita Health University, Toyoake, Japan

⁶Department of Pediatrics Toyohashi Municipal Hospital, Toyohashi, Japan

⁷Division of Neonatology, Center for Maternal-Neonatal Care, Nagoya University Hospital, Nagoya, Japan

⁸Department of Neonatology, Aichi Children's Health and Medical Center, Obu, Japan

⁹Department of Pediatrics, Nagoya City University West Medical Center, Nagoya, Japan

¹⁰Department of Paediatric Cardiology, Chukyo Children Heart Centre, Japan. Community Health Care Organization Chukyo Hospital, Nagoya, Japan

¹¹Department of Pediatrics, Japanese Red Cross Aichi Medical Center Nagoya Daini Hospital, Nagoya, Japan

DOI : 10.1007/s10875-022-01335-0

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Jou_220810en.pdf