

免疫不全症の QOL 調査、移植法開発

小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学

村松秀城 名古屋大学医学部附属病院小児科

研究要旨

先天性免疫不全症候群の原因遺伝子は非常に多岐に渡っており、これまでの、臨床的な特徴に着目し、特定の遺伝子だけを解析するアプローチでは診断が得られない症例が多数存在する。全エクソーム解析は全ての遺伝子を網羅的に解析する手法であり、より多くの症例において遺伝子診断を確定できる可能性がある。遺伝子診断が得られないまま治療を受けていた症例において全エクソーム解析を行い、*IL2RG* 遺伝子上の変異を同定した。これは全エクソーム解析の臨床的な有用性を示すものである。

A. 研究の目的

先天性免疫不全症候群は多様な原因遺伝子の変異によって発症する疾患群である。いくつかの候補遺伝子に着目した遺伝子検査が臨床検査として行われているが、遺伝子診断の得られない症例が多数存在する。全エクソーム解析は全ての遺伝子を網羅的に解析する手法であるが、これによって遺伝子診断を確定できる症例が増加する可能性がある。先天性免疫不全症候群の診断困難例で、全エクソーム解析によって遺伝子診断が得られた症例を提示する。

B. 研究方法

Agilent SureSelect V5、HiSeq 2000 を用いて、患児および両親の全エクソーム解析を行った。患児 T 細胞の染色体分析、および STAT5 のリン酸化を分析し、機能解析を行った。

(倫理面への配慮)

全エクソーム解析は、倫理委員会の承認が得られた臨床研究として書面に基づくインフォームドコンセントを得た上で、匿名化された状態で行った。

C. 研究結果

症例は 8 歳男児で、1 歳より反復性中耳炎・上気道炎、4 歳より反復性関節炎を繰り返した。低グロブリン血症、リンパ球刺激試験低反応を認めた。Common variable immunodeficiency としてその原

因遺伝子のいくつかを検索されたが、診断は確定されないまま、先天性免疫不全症として治療を受けていた。8 歳時に真菌感染症、サイトメガロウイルス感染症のコントロール不良となり、同種造血幹細胞移植目的で当院に転院となった。

原因遺伝子検索のため、本人および両親の全エクソーム解析を行ったところ、*IL2RG* 遺伝子の *de novo* ミスセンス変異 (c.172C>A, p.P58T) が検出された。この変異はサンガー法でも確認された(図 1)。他の免疫不全の原因となりうる遺伝子上に、病因と考えられる変異は検出されなかった。

IL2RG 遺伝子がコードする、CD132 の機能異常を確認するため、PHA/IL-2 刺激培養下の T 細胞において、STAT5 のリン酸化を検討したところ、患児 T 細胞においてはその減弱が確認された(図 2)。

図 1. サンガー法による *IL2RG* 変異の確認

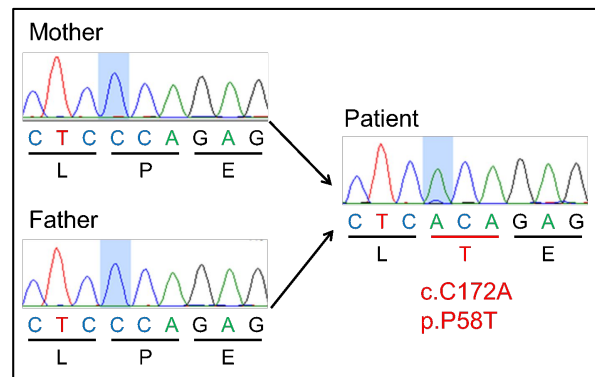
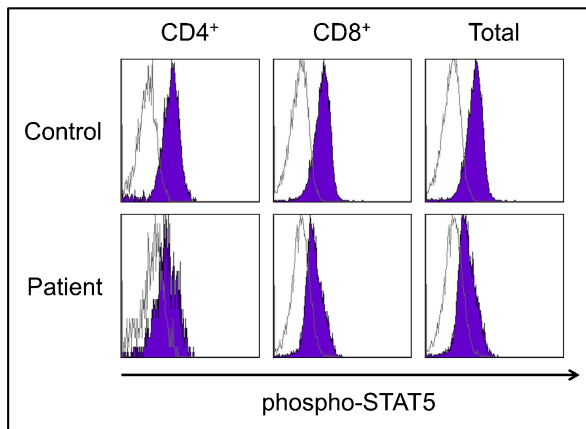


図 2. 患児 T 細胞の STAT5 リン酸化



D. 考察

従来の、臨床的な表現型から特定の遺伝子を狙って解析するアプローチでは遺伝子診断が得られない症例が、全エクソーム解析によって診断を確定できることが示唆される結果となった。先天性免疫不全症候群においては、遺伝子診断の決定が、予後の推定や、同種造血幹細胞移植における前処置の決定に直接的に関与する。全エクソーム解析を行うことで遺伝子診断を確定できる症例が増加すれば、臨床にも速やかにそのメリットが還元されることになる。

E. 結論

全エクソーム解析を用いて、先天性免疫不全症の診断困難症例の遺伝子診断を得ることができた。

F. 研究危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M, Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi

anemia patients. *Blood*. 2013 Oct 31;122(18):3206-3209.

- Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S and Hara T. B-cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using a minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID. *Int J Hematol*. 2013 Sep;98(3):355-360.
- Okuno Y, Murakoshi A, Negita M, Akane K, Kojima S, Suzuki H. CD8+ CD122+ regulatory T cells contain clonally expanded cells with identical CDR3 sequences of the T-cell receptor beta-chain. *Immunology*. 2013 Jul;139(3):309-317.
- Sakaguchi H, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Takahashi M, Kon A, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doisaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Exome sequencing identifies secondary mutations of SETBP1 and JAK3 in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2013 Aug;45(8):937-941.
- Yoshimi A, Kamachi Y, Imai K, Watanabe N, Nakadate H, Kanazawa T, Ozono S, Kobayashi R, Yoshida M, Kobayashi C, Hama A, Muramatsu H, Sasahara Y, Jakob M, Morio T, Ehl S, Manabe A, Niemeyer C, Kojima S. Wiskott-Aldrich syndrome presenting with a clinical picture mimicking juvenile myelomonocytic leukaemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 May;60(5):836-841.

2. 学会発表

(海外)

Kojima S. Clonal Evolution from Aplastic Anemia to Myelodysplastic Syndrome with Monosomy7. 7th International Congress on Shwachman-Diamond Syndrome. Nov. 3-6, 2013. Toronto, Canada.

(国内)

1. 小島勢二. 先天性血液疾患の病態研究に関する最近の進歩. 第 116 回日本小児科学会学術集会. 2013 年 4 月 19 日. 広島.
2. 坂口大俊、西尾信博、川島 希、王 稀楠、成田 敦、土居崎小夜子、村松秀城、濱 麻人、中西康詞、高橋義行、土田昌宏、小林良二、伊藤悦朗、矢部 普正、大賀正一、小原 明、長谷川大輔、真部 淳、伊藤雅文、小島勢二. Telomere length as a predictor for the immunosuppressive therapy in acquired aplastic anemia. 第 75 回日本血液学会学術集会. 2013 年 10 月 12 日. 札幌.
3. 王 希楠、村松秀城、坂口大俊、徐 銀燕、川島 希、成田 敦、土井崎小夜子、Olfat Ismael、中西康詞、濱 麻人、高橋義行、小島勢二 . GATA2 shows association with familial MDS, but not AA and JMML in Japanese children. 第 75 回日本血液学会学術集会. 2013 年 10 月 12 日. 札幌.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし