

マイコバクテリア易感染症(MSMD)を呈する機能喪失型 STAT1 異常症

研究分担者 小林 正夫 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院 教授)
研究協力者 津村弥来、溝口洋子、平田修、岡田賢

研究要旨

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症(MSMD)は BCG や非結核性抗酸菌など弱毒抗酸菌に易感染性を呈することを特徴とする。IFN- γ レセプター(IFN- γ R)1 欠損症、IFN- γ R2 欠損症、IL-12 欠損症、IL-12R 欠損症、STAT1 欠損症、NEMO 異常症など種々の病因が包含されている。STAT1 は type I IFN(IFN- α/β)と type II IFN(IFN- γ)の両方のシグナル伝達に重要な転写因子であり、機能喪失型変異によって細胞内寄生菌に対して易感染性を示すことが知られている。我々は本邦において3家系8例の常染色体優性遺伝型のヘテロ接合性変異例を同定した。変異部位は SH2 domain が1例(K673R)、母と男児家系は tale segment domain(Y701C)、祖母、父、患児を含む4症例は coiled coil domain(G250E)でいずれも新規変異であった。いずれの症例においても臨床的には多発性骨髄炎を呈し、病理所見は非乾酪性肉芽腫であった。抗酸菌培養で陽性を示したのは1家系のみであった。すべての家系で末梢血単球のインターフェロン刺激によるリン酸化低下を認めた。STAT1 null osteosarcoma cell への STAT1 変異遺伝子の強制発現実験を行い、遺伝子変異を有する STAT1 のシグナル伝達を検討した。すべての変異で IFN- γ 刺激に対し、STAT1 リン酸化低下、核内移行の軽度低下、DNA 結合能障害、dominant negative の転写活性異常が認められた。常染色体優性型の STAT1 異常症の報告は世界で10家系足らずであるが、この数年の遺伝子検査の進歩から本邦でも3家系を同定した。BCG 接種に対する過剰反応や多発性骨髄炎を呈する症例においては、STAT1 異常を含めた MSMD の診断が不可欠である。

A. 研究の目的

メンデル遺伝型マイコバクテリア易感染症(MSMD)は BCG や非結核性抗酸菌など弱毒抗酸菌に易感染性を呈することを特徴とする原発性免疫不全症である。IFN- γ レセプター(IFN- γ R)1 欠損症、IFN- γ R2 欠損症、IL-12 欠損症、IL-12R 欠損症、

STAT1 欠損症、NEMO 異常症など種々の病因が包含されている。STAT1 は type I IFN(IFN- α/β)と type II IFN(IFN- γ)の両方のシグナル伝達に重要な転写因子であり、機能喪失型変異によって細胞内寄生菌に対して易感染性を示すことが知られている。常染色体性優性遺伝を呈するヘテロ接

合性変異の報告例は 10 例あまりである。我々は本邦第一例を診断後、3 家系の常染色体優性遺伝型の STAT1 ヘテロ接合性変異例を同定したので、機能解析を含めて報告する。

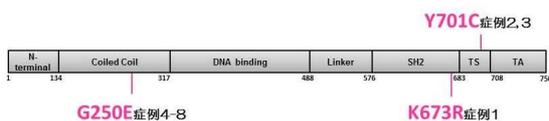
B. 研究方法

【症例 1】9 歳男児。6 歳時に左肘部の腫脹から骨髄炎を診断。生検にて非乾酪性肉芽腫症を認めた。STAT1 の SH2 ドメインの変異 (K673R) を同定。

【症例 2, 3】3 歳男児。背部痛と炎症所見の持続から多発性の骨病変を認めた。生検で非乾酪性肉芽腫を認めた。STAT1 の TS セグメントのリン酸化部位の変異 (Y701C) を同定した。患児の母親も 18 歳時に骨髄炎を指摘され、抗菌薬治療を受けていた。骨病変の精査から、頸椎、腰椎の変形と圧迫骨折を認めた。児と同じ変異を同定した。

【症例 4-8】2 歳男児。跛行を主訴として、左踵骨の骨破壊を認めた。生検にて非乾酪性肉芽腫と BCG 菌を同定した。STAT1 の Coiled coil ドメインに変異 (G250E) を同定した。父親が皮膚結核の既往と多発性骨髄炎あり、児と同じ変異を同定。父方祖母も 13 歳時に皮膚結核 (BCG 菌)。腰椎の変形を認め、同じ変異を同定。患児の従兄弟、叔父も骨髄炎既往と同じ変異が同定された。すべて優性遺伝形式と考えられた。

図 3 家系の STAT1 変異部位



(倫理面への配慮)

本研究は、広島大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会での承認を得た。

C. D. 研究結果と考察

3 家系で STAT1 の変異部位が異なっていたため、STAT1 のリン酸化、核内移行、DNA 結合能ならびに転写活性を検討した。すべての症例において、IFN 刺激によるリン酸化はわずかに残存、核内移行は軽度障害、DNA 結合はほぼ消失、転写活性は Dominant-negative 効果で減少していた。変異部位による大きな差は認められなかった。一方、IFN- による刺激では、転写活性に影響はなかった。これらの結果は患者の臨床症状が主として細胞内寄生菌に対する易感染性であり、ウイルス感染には易感染を示していないことと一致していた。興味ある臨床症状はすべての症例が骨病変 (慢性骨髄炎) を呈していることである。MSMD の原因である IL-12 欠損症、IL-12R 欠損症、NEMO 異常症で、骨髄炎を合併する頻度は極めて少ないのに対し、IFN- レセプター (IFN- R) 1 欠損症、IFN- R2 欠損症、STAT1 異常症での骨髄炎の合併は高率である。本邦症例の臨床的検討においても STAT1 異常はほぼ全例で骨髄炎を呈していることから、IFN-STAT1 シグナル伝達経路が骨髄炎発症に多大に関与していることが推測される。破骨細胞の活性化にこのシグナル伝達経路が重要であることは骨病変との関係を裏付けるものかもしれない。今後、葉克細胞の増殖と機能を検討する予定である。また STAT1 では機能獲得型変異で慢性皮膚粘膜カンジダ症 (CMCD) を発症することが明

らかとされている。MSMDとCMCDで、変異部位の偏りはあるものの、どのドメインでも機能喪失型と機能獲得型変異が存在している。STAT1の機能と変異、表現型の違いを明らかにする必要があると思われる。

E. 結論

本邦でSTAT1異常症3家系8症例を同定した。STAT1変異部位は3家系で異なっていたが、機能解析の結果はほぼ同様であった。臨床的にはすべての症例で慢性骨髄炎を合併していた。稀少な食細胞異常症を明らかとすることが出来た。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Hirata O, Minegishi S, Imai K, Hyakuna N, Muramatsu H, Kojima S, Ozaki Y, Imai T, Takeda S, Okazaki T, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant V, Kong X, Crypwy S, Dupuis S, Casanova JL, Morio T, Kobayashi M: Simple diagnosis of *STAT1* gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *Journal of Leukocyte Biology*, 2013 (in press).
- 2) Kobayashi Y, Matsui H, Kanai A, Tsumura M, Okada S, Miki M, Nakamura K, Kunishima S, Inaba T, Kobayashi M: Identification of the integrin $\beta 3$ L718P mutation in a pedigree with autosomal dominant thrombocytopenia with anisocytosis. *British Journal of Haematology* 160: 521-9, 2013.
- 3) Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Mochizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H,

Kobayashi M, Tsuji K: Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia-derived pluripotent stem cells with heterozygous *ELANE* mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 110: 3023-8, 2013.

- 4) Hirata O, Okada S, Tsumura M, Kagawa R, Miki M, Kawaguchi H, Nakamura K, Boisson-Dupuis S, Casanova JL, Takihara Y, Kobayashi M: Heterozygosity for the Y701C *STAT1* mutation in a multiplex kindred with multifocal osteomyelitis. *Haematologica* 98:1641-9, 2013.
- 5) Deenick EK, Avery DT, Chan A, Berglund LJ, Ives ML, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tsumura M, Kobayashi M, Arkwright PD, Averbuch D, Engelhard D, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Klein C, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Ma CS, Tangye SG: Naïve and memory human B cells have distinct requirements for STAT3 activation to differentiate into antibody-secreting plasma cells. *Journal of Experimental Medicine* 210: 2739-53, 2013.
- 6) Ives ML, Ma CS, Palendira U, Chan A, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Arkwright PD, Engelhard D, Averbuch D, Magdorf K, Roesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Tsumura M, Kobayashi M, Uzel G, Casanova JL, Tangye SG, Deenick EK: Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) mutations underlying autosomal dominant hyper-IgE syndrome impair human CD8(+) T-cell memory formation and function.

Journal of Allergy and Clinical Immunology, 132: 400-11, 2013.

- 7) Berglund LJ, Ma CS, Avery DT, Moens L, Deenick EK, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Wong M, Adelstein S, Arkwright PD, Fulcher DA, Ziegler JB, Smart JM, Kobayashi M, Casanova JL, Cook MC, Uzel G, Tangye SG: IL-21 signalling via STAT3 primes human naïve B cells to respond to IL-2 to enhance their differentiation into plasmablasts. Blood 122: 3940-50, 2013.
- 8) Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito M, Matsubara K, Adachi S, Kobayashi M, Nakahata T, Heike T: Genetic correction of HAX1 in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. Haematologica, Epub ahead of print Aug 23, 2013.

2. 学会発表

- 1) Kobayashi M, Mizoguchi Y, Karakawa S, Okada S, Kawaguchi H, Nakamura K: Genetic characteristic of patients with severe congenital neutropenia in Japan. 27th International Congress of Pediatrics, August 24-29, Melbourne, Australia

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし