

全エキソーム解析によって解明した Hoyeraal-Hreidarsson 症候群の責任遺伝子: *RTEL1*

研究分担者 原 寿郎 (九州大学大学院医学研究院成長発達医学 教授)

研究要旨

先天性角化不全症は、これまでテロメア関連遺伝子変異により発症すると報告されている。原因不明であった Hoyeraal-Hreidarsson 症候群の児について、その原因を解明するためエキソーム解析を行ったところ、*RTEL1* 遺伝子の compound heterozygous mutation を確認した。*RTEL1* はテロメアの維持・複製、および DNA 二本鎖切断修復に関与しており、2013 年に先天性角化不全症の新規原因遺伝子として新たに報告された。本症例は本邦初の *RTEL1* 変異による Hoyeraal-Hreidarsson 症候群と考えられた。

A. 研究の目的

Hoyeraal-Hreidarsson 症候群(HHS)は先天性骨髄不全症候群の1つであり、先天性角化不全症(dyskeratosis congenita; DC)の最重症型である。乳児期早期に骨髄不全症を発症し、小頭症、小脳低形成、成長発達遅延、顔貌異常を呈する。これまでテロメア関連遺伝子の変異により発症すると報告されているが、まだ半数例では既知の遺伝子異常を認めず、未知の原因遺伝子が存在すると考えられる。我々は、既知のテロメア関連遺伝子に異常を認めないHHS男児例とその両親を対象とし、全 exon 解析(whole exome sequence)を行い、原因遺伝子探索を行った。

B. 研究方法

[症例] 在胎 36 週 0 日、体重 1455g で出生した男児。体重増加不良と発達遅滞があり、頭部 MRI で小脳低形成を認めた。1 歳時に *Escherichia coli* による敗血症罹患後

より汎血球減少と低ガンマグロブリン血症が進行した。末梢血で B 細胞・NK 細胞数は著減していた。骨髄は低形成で、Flow-FISH 法によりテロメア長の短縮を認め、先天性角化不全症の最重症型である Hoyeraal-Hreidarsson 症候群と診断した。造血不全が進行し発熱が持続し緊急的に臍帯血移植を施行したが救命できなかった。

[遺伝子解析]

ご両親に遺伝子解析について説明を行い、同意を得て患者末梢血より DNA を抽出し、既知の原因遺伝子(*TERC*, *TERT*, *DKC1*, *NHP2*, *NOP10*, *TINF2*, *TCAB1*)および *APOLLO/IKAROS* 遺伝子に対し、サンガー法による遺伝子解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は九州大学病院倫理委員会により承認(承認番号:488-00)されており、患者およびご両親に対する研究解析に関し、書

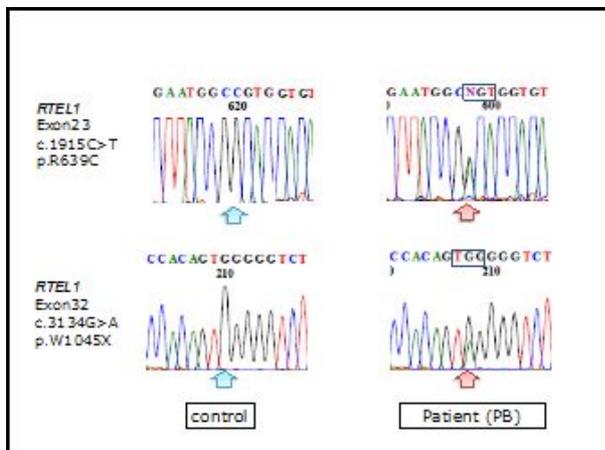
面により両親に説明し、同意を得た。匿名化を行い個人情報保護に配慮した。

C. 研究結果

サンガー法で解析した遺伝子 (*TERC*, *TERT*, *DKC1*, *NHP2*, *NOP10*, *TINF2*, *TCAB1*, *APOLLO*, *IKAROS*) に変異を認めなかった。

Whole exome sequence では、in house SNP (正常検体で見られる SNV)、dbSNP131 で報告されている SNP、アミノ酸置換を伴わない synonymous な SNV、Mismatch 率 (SNV を call する read の割合) が 25% 以下 (in/del では 10%) で信頼度が低い SNV を除外し、患者検体で 354 の SNV/SNP または in/del を同定した。これらのうち、常染色体劣性遺伝形式をとり、テロメア関連遺伝子であるものは唯一 *RTEL1* (Regulator of telomere elongation helicase 1) 遺伝子であり、複合ヘテロ遺伝子変異 (c.1915C>T: p.Arg639Cys, c.3134G>A: p.Trp1045X) を認めた。サンガー法により確認し(図 1)、患児の両親は保因者であった。

図 1. 本症例で同定した *RTEL1* 遺伝子変異



c.1915C>T: p.Arg639Cys 変異に関して、SIFT(<http://sift.jcvi.org/>) および

Poly-phen-2

(<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)

による変異予想解析では、いずれも Damaging であり、同部位は種を越えて保存されている部位であった。

D. 考察

RTEL1 はテロメアの維持・複製、および DNA 二本鎖切断修復に関与しており¹、2013 年に先天性角化不全症の新規原因遺伝子として報告された²⁻⁴) Le Guen T. et al, Hum Mol Genet.2013)。過去の報告ではほとんどが本症例と同様の常染色体劣性遺伝形式の HHS で表現型も類似していた(表 1)。一方で hetero 接合性変異の軽症 DC 例も報告されており、今後の症例蓄積が望まれる。

表 1. 既報告と本症例との比較

	本症例	既報告
性別	男	男:女=11:8
血族婚	-	1/12
IUGR	+	13/19
成長障害	+	13/19
小頭症	+	15/19
小脳低形成	+	16/19
発達遅滞	+	12/16
骨髄不全	+	19/19
免疫不全	+	13/18
口腔・消化器所見	+	7/19
皮膚所見	-	7/18
予後	死亡	死亡/生存=9/10

E. 結論

全エクソーム解析によって、国内で最初となる *RTEL1* 遺伝子変異による Hoyerlaal-Hreidarsson 症候群患者を同定した。

参考文献

1. Vannier JB, Pavicic-Kaltenbrunner V, Petalcorin MI, Ding H, Boulton SJ. RTEL1 dismantles T loops and counteracts telomeric G4-DNA to maintain telomere integrity. *Cell*. 149: 795-806, 2012
2. Ballew BJ, et al. Germline mutations of regulator of telomere elongation helicase 1, RTEL1, in Dyskeratosis congenita. *Hum Genet*. 132: 473-80, 2013
3. Walne AJ, Vulliamy T, Kirwan M, Plagnol V, Dokal I. Constitutional mutations in RTEL1 cause severe dyskeratosis congenita. *Am J Hum Genet*. 92: 448-53, 2013
4. Le Guen T, et al. Human RTEL1 deficiency causes Hoyeraal-Hreidarsson syndrome with short telomeres and genome instability. *Hum Mol Genet*. 22: 3239-49, 2013

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kumaki S, Sasahara Y, Kamachi Y, Muramatsu H, Morio T, Goi K, Sugita K, Urabe T, Takada H, Kojima S, Tsuchiya S, Hara T: B cell function after unrelated umbilical cord blood transplantation using minimal-intensity conditioning regimen in patients with X-SCID. *Int J Hematol*. 98: 355-60, 2013
- 2) Imagawa T, Nishikomori R, Takada H, Takeshita S, Patel N, Kim D, Lheritier K, Heike T, Hara T, Yokota S: Safety and efficacy of canakinumab in Japanese patients with phenotypes of cryopyrin-associated periodic syndrome as established in the first open-label, phase-3 pivotal study (24-week results). *Clin Exp Rheumatol*. 31: 302-9, 2013
- 3) Yokota S, Nishikomori R, Takada H, Kikuchi M, Nozawa T, Kanetaka T, Kizawa T, Miyamae T, Mori M, Heike T, Hara T, Imagawa T: Guidance on the use of canakinumab in patients with cryopyrin-associated periodic syndrome

in Japan. *Mod Rheumatol*. 23: 425-9, 2013

- 4) Higuchi Y, Shimizu J, Hatanaka M, Kitano E, Kitamura H, Takada H, Ishimura M, Hara T, Ohara O, Asagoe K, Kubo T: The identification of a novel splicing mutation in C1qB in a Japanese family with C1q deficiency: a case report. *Pediatr Rheumatol Online J*. 11(1): 41, 2013

2. 学会発表

- 1) Hara T, Ishimura M, Tahada H: Autoimmune diseases in patients with primary immunodeficiency diseases. The 2nd International Congress on Controversies in Rheumatology and Autoimmunity, Apr 4-6, 2013, Budapest, Hungary
- 2) Hara T: Innate immunity and infection in the newborn. The 9th Congress of Asian Society for Pediatric Research, May 9-12, 2013, Kuching, Sarawak, Malaysia
- 3) Yamamura K, Uike K, Nakashima Y, Hirata Y, Nagata H, Takimoto T, Ishimura M, Takada H, Ohga S, Hara T: Early progression of atherosclerosis in children with cryopyrin-associated periodic syndrome. May 9-12, 2013, Sarawak, Malaysia
- 4) Takimoto T, Ishimura M, Takada H, Morio T, Ohga S, Hara T: A Japanese female case of Wiskott-Aldrich syndrome with skewed X-chromosome inactivation. The 4th JSH International Symposium, May 24-25, 2013, Ehime, Japan

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