

原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類および 診療ガイドラインの確立に関する研究

研究分担者 小原 収 かずさDNA研究所 副所長

研究要旨

臨床情報の蓄積と原発性免疫不全症の確定診断を進めるために、本研究班からの臨床情報蓄積と研究班員から依頼された確定診断に向けた遺伝子解析を継続して実施した。それらの結果を依頼研究班員にフィードバックし、それぞれの免疫不全症の診断基準の設定のための基盤情報の蓄積に貢献した。

A．研究目的

多様な臨床的な症状を呈する原発性免疫不全症の確定診断には、遺伝子検査が必須である。今回、種々の原発性免疫不全症の診断基準を確定する事を最終的な目的として、各症例ごとの原発性免疫不全症の原因となることが分かっている既知遺伝子の遺伝子解析依頼を本研究班全体から受け入れ、その結果をフィードバックすることにより、確定診断の実現に資する情報を提供することを目的とする。

B．研究方法

原発性免疫不全症の原因となる事が既知である遺伝子に対して、その遺伝子がタンパク質をコードするエクソンとそのエクソン・イントロン境界配列をDNAシーケンシング法により解析した。解析結果は本研究班分担研究者に報告し、その評価は各分担者が行う形で進めた。ABI3130/3730 キャピラリーシーケンサー(Life Technologies, Applied Biosystems®)での解析を基本とするが、本年度からはイルミナ MiSeq による各免疫不全疾患毎のパネル診断に大きく解析方法をシフトした。PCR に依拠したアンプリコンシーケンシングを基本として解析を進めた。

(倫理面への配慮)

本研究での解析検体は、それぞれの研究分担者施設において同意書へのサインなどをいただいております。本研究分担者には匿名化された検体 ID のみが通知される。この遺伝子解析に関しては、すべての関係する機関でヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に則った研究であることを倫理審査委員会で確認・承認を受けた上で実施した。

C．研究結果

今年度は12月末の時点までに本研究班の分担研究者から520症例の解析依頼を受け、解析した遺伝子数は3000を越えた。このペースは昨年度の解析症例数の約2倍(年度単位として)となっており、本研究班において活発に確定診断に向けた取組みがなされている事が見受けられた。この作業効率向上には次世代シーケンサーシステムの導入が大きく貢献していた。表1に、今年度12月までの解析遺伝子とそれぞれの解析症例数のリストを示す。現時点では9種類の疾患パネルを解析依頼者の希望に応じて準備し、それらを運用した。

表1. 2015年4月から12月までの遺伝子解析依頼状況

遺伝子名	解析依頼回数	遺伝子名	解析依頼回数	遺伝子名	解析依頼回数	遺伝子名	解析依頼回数
ACP5	3	FAS	4	KRAS	3	PTPRC	3
ADA	3	FASLG	4	LCK	3	RAB27A	1
ADAR	3	FLG	1	LIG4	5	RAG1	4
AIRE	1	FLT3	1	LPIN2	4	RAG2	4
AK2	3	FOXN1	4	LRBA	7	RMRP	3
ATM	3	FOXP3	2	MAGT1	2	RNASEH2A	3
ATR	3	GATA2	4	MCM4	1	RNASEH2B	3
BLM	1	GFI1	4	MEFV	135	RNASEH2C	3
BTK	6	HAX1	5	MRE11A	1	RORC	1
BTNL2	1	HMOX1	120	MS4A1	6	SAMHD1	3
C2	1	ICOS	6	MVK	125	SH2D1A	30
C3	1	IFIH1	4	MYD88	3	SLURP1	1
C9	1	IFNGR1	6	NBN	1	STAT1	11
CARD11	1	IFNGR2	6	NCF1	3	STAT2	1
CARD9	1	IKBKG	12	NCF2	2	STAT3	18
CASP10	5	IKZF1	1	NFKB1	4	STAT5A	3
CASP8	3	IL10	2	NFKB2	6	STAT5B	2
CD19	6	IL10RA	2	NFKBIA	4	STX11	25
CD247	3	IL10RB	2	NHEJ1	3	STXBP2	26
CD27	5	IL12B	6	NIPAL4	1	TBK1	1
CD3D	3	IL12RB1	6	NLRC4	123	TBX1	1
CD3E	3	IL17F	2	NLRP12	124	TCF3	1
CD3G	3	IL17RA	2	NLRP3	129	TMEM173	2
CD40LG	4	IL17RC	1	NOD2	126	TNFRSF13B	6
CD81	6	IL1RN	120	NRAS	1	TNFRSF13C	6
CD8A	3	IL2RA	1	PGM3	1	TNFRSF1A	127
CECR1	10	IL2RB	1	PIK3CD	7	TRAF3IP2	2
CORO1A	3	IL2RG	18	PIK3R1	3	TREX1	3
CR2	6	IL7R	4	PLCG2	127	TRNT1	1
CTLA4	8	IRAK4	3	PNP	3	TYK2	11
CYBB	9	IRF8	9	PRF1	29	UNC13D	26
DCLRE1C	3	ISG15	7	PRKDC	3	WAS	18
DOCK8	10	ITK	24	PSMB8	123	WIPF1	8
ELANE	7	JAK3	10	PSTPIP1	122	XIAP	31
						ZAP70	3

D . 考察

比較的症候から原因遺伝子が明確に同定できる疾患と、遺伝的な素因を確定診断するのが困難な疾患が明確化してきた。遺伝的検査は現在の診断基準でも確定診断に至る必須の情報となっており、これらの解析情報の蓄積は重要である。その解析処理量も近年著しい向上を見せているので、今後より多くの候補既知遺伝子が網羅的な遺伝子解析によって同定されてくることにより、更に高効率に確定診断が実現できると期待できる。本研究では探索的な新規原因遺伝子探索は行わなかったが、そうした探索研究も医科学研究として活発に進められており、臨床的にその研究成果が活かされるのは間違いないと考えられる。

E . 結論

継続的な遺伝子解析を研究班内で実施する事により、たくさんの症例における遺伝子型と疾患表現型の関連データを蓄積できた。このデータを活用する事により、必ずしも疾患症状からだけでは原因の確定に至れない症例に対しても、遺伝学的な検査によってより高精度・高効率に確定診断できる可能性が示唆された。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Saida S, Umeda K, Yasumi T, Matsumoto A, Kato I, Hiramatsu H, Ohara O, Heike T, Adachi S. Successful reduced-intensity stem cell transplantation for GATA2 deficiency before progression of advanced MDS. *Pediatr Transplant*. 2016 Jan 8. [Epub ahead of print]
- 2) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Sakata S, Ueno Y, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M. A Patient with CTLA-4 Haploinsufficiency Presenting Gastric Cancer. *J Clin Immunol*. 2016 Jan;36(1):28-32.

- 3) Hara Y, Kobayashi N, Maruyama Y, Motobayashi M, Shigemura T, Ohara O, Agematsu K, Koike K. Analysis of Mutations in the IL2RG Gene in 2 Asian Infants with X-linked Severe Combined Immunodeficiency. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 2015;25(4):313-5.
- 4) Yasutomi M, Yoshioka K, Mibayashi A, Tanizawa A, Imai K, Ohara O, Ohshima Y. Successful Myeloablative Bone Marrow Transplantation in an Infant With Wiskott-Aldrich Syndrome and Bacillus Calmette-Guerin Infection. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Nov;62(11):2052-3.
- 5) Kido J, Mizukami T, Ohara O, Takada H, Yanai M. Idiopathic disseminated bacillus Calmette-Guerin infection in three infants. *Pediatr Int*. 2015 Aug;57(4):750-3.
- 6) Hirata O, Okada S, Tsumura M, Karakawa S, Matsumura I, Kimura Y, Maihara T, Yasunaga S, Takihara Y, Ohara O, Kobayashi M. Mosaicism of an ELANE mutation in an asymptomatic mother in a familial case of cyclic neutropenia. *J Clin Immunol*. 2015 Jul;35(5):512-6.
- 7) Kato T, Crestani E, Kamae C, Honma K, Yokosuka T, Ikegawa T, Nishida N, Kanegane H, Wada T, Yachie A, Ohara O, Morio T, Notarangelo LD, Imai K, Nonoyama S. RAG1 deficiency may present clinically as selective IgA deficiency. *J Clin Immunol*. 2015 Apr;35(3):280-8.
- 8) Takimoto T, Takada H, Ishimura M, Kirino M, Hata K, Ohara O, Morio T, Hara T. Wiskott-Aldrich syndrome in a girl caused by heterozygous WASP mutation and extremely skewed X-chromosome inactivation: a novel association with maternal uniparental isodisomy 6. *Neonatology*. 2015;107(3):185-90.

2 . 学会発表

- 1) 園田 素史、石村 匡崇、松岡 若利、山下 文也、江口 克秀、高田 英俊、小田 紘嗣、小原 収、重症 RSV 肺炎を契機に診断された色素失調症を伴う外胚葉形成不全免疫症の男児、第 9 回日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23

日 東京

- 2) 戸澤 雄介、山田 雅文、Abdrabou Shima、植木 将弘、竹崎 俊一郎、小林 一郎、有賀 正、小田 紘嗣、小原 収、alopecia を伴う進行性 B 細胞欠損を呈した NFκB2 ヘテロ変異例、第 9 回 日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23 日 東京
- 3) 早川 誠一、岡田 賢、土居 岳彦、小林 正夫、星野 顕宏、高木 正稔、今井 耕輔、朴 今花、金兼 弘和、山下 基、岡野 翼、森尾 友宏、村松 秀城、奥野 友介、小島 勢二、鹿間 芳明、加藤 環、小田 紘嗣、小原 収、林 泰秀、田中 洋子、宮野 悟、白石 友一、千葉 健一、宮野 悟、吉田 健一、上野 浩生、小川 誠司、CTLA-4 ハブド不全による原発性免疫不全症の 9 例、第 9 回 日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23 日 東京
- 4) 關中 佳奈子、加藤 環、關中 悠仁、野々山 恵章、今井 耕輔、高島 健浩、大西 秀典、加藤 善一郎、岡本 典子、小原 収、軽度 T 細胞機能不全と NK 細胞数減少を呈し、エクソーム解析にて IL2RG 新規変異を同定した兄弟例、第 9 回 日本免疫不全症研究会、2016 年 1 月 23 日 東京

G 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

- 1 . 特許取得
なし
- 2 . 実用新案登録
なし
- 3 . その他
なし