

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本年度も継続して実施した。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を進めた。

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、各症例ごとに原発性免疫不全症の既知原因遺伝子の遺伝子解析依頼を本研究班構成メンバーから受け入れ、その解析結果をフィードバックすることにより、遺伝学的検査による確定診断のための情報を蓄積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、その結果判定は本研究班の研究分担者がそれぞれの専門領域に応じて行う形で進めた。昨年度からは次世代DNAシーケンサーであるイルミナ MiSeq による各免疫不全疾患毎のパネル診断をルーチンとして採用している。次世代シーケンサー用のライブラリーは、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調製した。

（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患者様からの同意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。本研究班での

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月末の時点で本研究班の分担研究者から583症例の解析依頼を受け、解析した述べ遺伝子数は4000を越えた。このペースは昨年度の解析症例数の約1.2倍（年度単位として）であり、本研究班における遺伝子検査数の上限に近づいていると考えられる。更に、作業効率向上だけでなく、次世代シーケンサーシステムの導入が精度低下をもたらすことなく検査コストの削減にもつながるような技術開発をAMED 難治性疾患実用化研究事業「小児科・産科領域疾患の大規模解析ネットワークとエピゲノム解析」研究班と連携して進めた。表1に、その結果として達成された今年度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。

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の分類が顕在化してきた。遺伝的検査は現在の多く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より良い診断法の開発のために重要である。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って、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。しかし、その一方で、現在用いている枠組みの遺伝子構造解析からだけでは確定診断に至れない症例が存在することも明らかであり、今後は遺伝子構造解析を基礎としながらも、mRNA レベル、タンパク質レベル、代謝産物レベルなどの分子的な疾患の表現型との関係の上で遺伝子解析結果を眺めていくアプローチがより重要になってくる可能性が示唆された。

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. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Lévy R, Okada S, Béziat V, Moriya K, Liu C, Chai LY, Migaud M, Hauck F, Al Ali A, Cyrus C, Vatte C, Patiroglu T, Unal E, Ferneiny M, Hyakuna N, Nepesov S, Oleastro M, Ikinciogullari A, Dogu F, Asano T, Ohara O, Yun L, Della Mina E, Bronnimann D, Itan Y, Gothe F, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tahuil N, Aytekin C, Salhi A, Al Muhsen S, Kobayashi M, Toubiana J, Abel L, Li X, Camcioglu Y, Celmeli F, Klein C, AlKhater SA, Casanova JL, Puel A. Genetic, immunological, and clinical features of patients with bacterial and fungal infections due to inherited IL-17RA deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Dec 7. [Epub ahead of print].

2: Sato T, Okano T, Tanaka-Kubota M, Kimura S, Miyamoto S, Ono S, Yamashita M, Mitsuiki N, Takagi M, Imai K, Kajiwara M, Ebato T, Ogata S, Oda H, Ohara O, Kanegane H, Morio T. Novel compound heterozygous mutations in a Japanese girl with Janus kinase 3 deficiency. *Pediatr Int*. 2016 Oct;58(10):1076-1080.

3: Singh S, Rawat A, Suri D, Gupta A, Garg R, Saikia B, Minz RW, Sehgal S, Chan KW, Lau YL, Kamae C, Honma K, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Oshima K, Mitsuiki N, Ohara O. X-linked

agammaglobulinemia: Twenty years of single-center experience from North West India. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2016 Oct;117(4):405-411.

4: Chikazawa S, Takai S, Furuya A, Kato T, Ohara O, Hashimoto T, Nonoyama S, Satoh T. Widespread Molluscum Contagiosum with Atopic Dermatitis-like Skin Manifestations. *Acta Derm Venereol*. 2016 Aug 18.

5: Tsujita Y, Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Yeh TW, Mitsuiki N, Asano T, Ohnishi H, Kato Z, Sekinaka Y, Zaha K, Kato T, Okano T, Takashima T, Kobayashi K, Kimura M, Kunitsu T, Maruo Y, Kanegane H, Takagi M, Yoshida K, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Ohara O, Okada S, Kobayashi M, Morio T, Nonoyama S. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase δ syndrome-like immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Dec;138(6):1672-1680.e10.

6: Ohnishi H, Kawamoto N, Kaneko H, Kasahara K, Ohara O, Kato Z, Fukao T. A case of selective IgG subclass deficiency with STAT3 mutation. *Allergol Int*. 2016 Oct;65(4):495-497.

2. 学会発表

1. 松本和明、西村聡、星野顕宏、田中真理、山下基、下村真毅、堀越泰雄、渡邊健一郎、森 嘉生、加藤環、野々山恵章、小田紘嗣、小原收、満生紀子、柳町昌克、梶原道子、今井耕輔、高木正稔、金兼弘和、森尾友宏。風疹ウイルスワクチン株の持続感染を契機に診断した LIG4 欠損症に対し、非血縁者間骨髄移植を施行した一例 第 58 回日本小児血液・がん学会 (2016 年 12 月 15 日、東京)

2. 関中佳奈子、今井耕輔、豊福悦史、戸田壮一郎、岡野翼、小倉友美、吉田裕輔、座波清誉、中村康子、鹿間芳明、上原貴博、小原收、野々山恵章。抗体産生不全、T 細胞機能不全を呈した 6p サブテロメア欠失症候群の 2 例 第 10 回日本免疫不全症研究会 (2017 年 1 月 20 日、東京)

3. 仁平寛士、井澤和司、西谷真彦、日衛島栄太郎、田中孝之、河合朋樹、八角高弘、西小森隆太、平家俊男、南部光彦、笹原洋二、江川祥子、小原收。不明熱、皮疹から乳児期早期に診断に至った ADA2 欠損症の 1 例。第 10 回日本免疫不全症研究会 (2017 年 1 月 20 日、東京)

H. 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

表1. 平成28年4月から12月までの遺伝子解析状況

遺伝子名	解析回数	遺伝子名	解析回数	遺伝子名	解析回数	遺伝子名	解析回数
ACP5	6	FAS	18	MALT1	1	SAMD9	4
ADA	5	FASLG	11	MASP2	1	SAMD9L	4
ADAR	6	FCGR3A	7	MCM4	7	SAMHD1	6
AICDA	4	FOXP1	5	MEFV	242	SERPING1	27
AIRE	1	FOXP3	6	MS4A1	9	SH2D1A	51
AK2	5	G6PC3	3	MSN	5	SH3BP2	27
ALK	1	GATA2	11	MVK	196	SLC29A3	29
BCL10	1	GF11	4	NCF2	5	STAT1	24
BLNK	1	HAX1	8	NCF4	1	STAT3	27
BTK	10	HMOX1	175	NFKB1	1	STAT5A	5
CARD11	6	ICOS	10	NFKB2	1	STAT5B	5
CARD14	27	IFIH1	6	NHEJ1	5	STIM1	1
CASP10	13	IFNGR1	17	NLRC4	198	STK4	7
CASP8	12	IFNGR2	17	NLRP12	188	STX11	29
CD19	9	IGHM	1	NLRP3	203	STXBP2	37
CD247	5	IKBKG	26	NLRP7	27	TADA2A	2
CD27	11	IKZF1	7	NOD2	188	TBK1	1
CD3D	5	IKZF3	8	ORAI1	1	TCF3	2
CD3E	5	IL10	33	OTULIN	3	TICAM1	1
CD3G	5	IL10RA	34	PGM3	1	TINF2	2
CD40	4	IL10RB	34	PIK3CD	22	TLR3	2
CD40LG	8	IL12B	17	PIK3R1	22	TMC6	1
CD55	1	IL12RB1	17	PLCG2	192	TMC8	1
CD70	7	IL1RN	176	PNP	6	TMEM173	6
CD79A	1	IL21	1	PRF1	36	TNFAIP3	129
CD81	9	IL2RA	1	PRKDC	5	TNFRSF11A	4
CD8A	5	IL2RB	1	PSMB8	181	TNFRSF13B	14
CECR1	57	IL2RG	15	PSTPIP1	186	TNFRSF13C	9
CIITA	1	IL36RN	28	PTEN	23	TNFRSF1A	214
CLEC7A	1	IL7R	5	PTPN22	1	TRAF3	5
CORO1A	12	IRF4	2	PTPRC	5	TRAF6	1
CR2	9	IRF8	17	RAB27A	1	TREX1	6
CSF3R	3	ISG15	18	RAG1	5	TRNT1	1
CTLA4	25	ITGB2	1	RAG2	5	TYK2	18
CTPS1	7	ITK	37	RBCK1	30	UNC13D	29
CXCR4	1	JAGN1	1	RFX5	1	UNC93B1	1
CYBA	4	JAK3	6	RFXANK	1	UNG	3
CYBB	22	KRAS	11	RFXAP	1	VPS45	1
DCLRE1C	12	LCK	5	RIPK1	1	WAS	25
DOCK8	14	LIG4	12	RMRP	5	WIPF1	12
ELANE	8	LPIN2	29	RNASEH2A	6	XIAP	48
EPX	1	LRBA	19	RNASEH2B	6	ZAP70	12
FADD	1	MAGT1	7	RNASEH2C	6	ZNF341	1