

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
分担研究報告書

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：原発性免疫不全症の遺伝学的検査が保険収載された事により、安定的な確定診断への道が拓かれた。しかし、この保険検査とこれまでの臨床研究を相互補完的に実施していく体制の構築は、原発性免疫不全症の症例蓄積を基礎とした診断基準・重症度分類の確立のための重要な役割を果たすと考えられる。本年度は、こうした新しい継続性を担保された診断システムと連携して臨床研究を展開するための基盤構築を推し進めた。

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。これまで、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、本分担者は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してきた。

しかし、平成28年度から原発性免疫不全症の遺伝学的検査が保険収載されたことを受け、保険検査として行われる遺伝子検査と臨床研究を適切に仕分けしながらも連携した形で実施することが求められることとなった。本研究では、その新しい体制確立のための諸問題の検討を行った。

B. 研究方法

診断目的のための遺伝子検査において、臨床症状に応じた検査対象の遺伝子群を

日本免疫不全・自己炎症学会のワーキンググループにより策定してもらった。保険点数内でこれらの免疫不全症の診断目的のための遺伝子検査が実現できるように、それぞれの疾患パネルを用いた次世代シーケンシング（イルミナ社 NextSeq500）による検査パイプラインの構築を行った。

（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、すべての関係する班会議分担施設でヒトゲノム・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

病院からの血液搬送、血液からの DNA 調製、次世代シーケンシング目的のライブラ

リー構築、ハイブリダイゼーション法によるターゲット領域の濃縮、DNA シーケンシング、データ解析パイプラインの運用、報告書作成までの全工程を実稼働させ、全体の検査ラインの安定化を妨げる要因をひとつずつ解決していった。特に、限られたコストの中で精度を落とさない点に留意した工夫を積み重ね、現時点の保険点数でも赤字にはならず運用できるパイプラインを構築できた。

D. 考察

これまでの PIDJ ネットワークでの原発性免疫不全症遺伝子解析の経験を活かし、限られたコストで効率的に遺伝子解析を実施するパイプラインを構築できた。しかし、これまでと同様に、他の遺伝性疾患と比べて原発性免疫不全症の遺伝子解析による確定診断率は決して高くない。そのため、保険診療の下での遺伝子検査だけで確定診断できないケースの場合には、これまでと同じような臨床研究としてのより広範な診断による治療法選択の実現を目指す必要がある。保険検査として免疫不全症の遺伝学的検査が実施できるようになったことは大きな一歩ではあるが、それが実際の診療に結び付くためには、どうやって臨床研究にご協力いただく患者様とご家族をリクルートしていくかという問題を解決していく必要がある。そのための学会主導でのネットワーク構築が進行中である。

E. 結論

これまでの研究費に依存していたボランティアに近い遺伝子検査体制から保険診療下での遺伝子解析へと移行したことで、継

続的に患者様とご家族に遺伝学的検査を提供できる体制を構築できた。今後、この診断目的の検査とどのように連携することで、診断基準の策定・診療ガイドラインの確立に向かうかが新たな課題として浮かび上がってきた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1: Kadowaki T, Ohnishi H, Kawamoto N, Hori T, Nishimura K, Kobayashi C, Shigemura T, Ogata S, Inoue Y, Kawai T, Hiejima E, Takagi M, Imai K, Nishikomori R, Ito S, Heike T, Ohara O, Morio T, Fukao T, Kanegane H. Haploinsufficiency of A20 causes autoinflammatory and autoimmune disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Dec 11. pii: S0091-6749(17)31885-7.

2: Ohnishi H, Kishimoto Y, Taguchi T, Kawamoto N, Nakama M, Kawai T, Nakayama M, Ohara O, Orii K, Fukao T. Immunodeficiency in Two Female Patients with Incontinentia Pigmenti with Heterozygous NEMO Mutation Diagnosed by LPS Unresponsiveness. *J Clin Immunol*. 2017 Aug;37(6):529-538.

3: Sekinaka Y, Mitsuiki N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S. Common Variable Immunodeficiency Caused by FANC Mutations. *J Clin Immunol*. 2017 Jul;37(5):434-444.

4: Rawat A, Vignesh P, Sharma A, Shandilya JK, Sharma M, Suri D, Gupta A, Gautam V, Ray P, Rudramurthy SM, Chakrabarti A, Imai K, Nonoyama S, Ohara O, Lau YL, Singh S. Infection Profile in Chronic Granulomatous Disease: a 23-Year Experience from a Tertiary Care Center in North India. *J*

Clin Immunol. 2017 Apr;37(3):319-328.

5: Fujiki R, Hijikata A, Shirai T, Okada S, Kobayashi M, Ohara O. Molecular mechanism and structural basis of gain-of-function of STAT1 caused by pathogenic R274Q mutation. J Biol Chem. 2017 Apr 14;292(15):6240-6254.

2. 学会発表

1. ゲノム解析機関をハブとした遺伝子医療システム構築、小原收、第 24 回日本遺伝子診療学会大会、2017 年 7 月 15 日（三井ガーデンホテル千葉、千葉）国内
2. 診断応用に向けた先端ゲノミクス技術の活用と今後の展望、小原收、第 27 回日本小児リウマチ学会、2017 年 10 月 7 日（京都リサーチパーク、京都）国内
3. ゲノミクスから見た免疫細胞の社会学、小原收、次世代バイオ・医療技術研究会、2017 年 11 月 29 日（東京大学生産技術研究所、東京）国内
4. PID 原因遺伝子探索と今後のアプローチ：臨床検体からのオミックス解析のための基盤構築、小原收、第 1 回日本免疫不全・自己炎症学会、2018 年 1 月 20 日（ベルサール神田、東京）国内

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