

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：82406

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15396

研究課題名(和文) EAOH原因分子APTXのDNA二重鎖切断修復機能と免疫神経細胞分化障害の解明

研究課題名(英文) DNA double strand break repair defects and impaired immune and neuron cell differentiations in patients with EAOH caused by APTX mutation.

研究代表者

野々山 恵章 (Nonoyama, Shgeaki)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・小児科学・教授)

研究者番号：40280961

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：眼球運動失行と低アルブミン血症を伴う早期発症型失調症(Early onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia, EAOH)患者9症例の免疫学的解析を行った。EAOHではナイーブT細胞の著減、B細胞欠損、T細胞新性能を示すマーカーTRECの低値、B細胞新生能を示すマーカーKRECの低値を認めた。EAOHの原因遺伝子であるAPTX異常によりDNA一重鎖切断修復異常に加えDNA二重鎖切断修復異常が起き、その結果、神経細胞に加え、T細胞、B細胞の発生障害が起きる事を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Immunological analysis was performed on nine patients with early onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia (EAOH). Reduction of naive T cells and B cells, decrease of TREC, a marker of T cell neogenesis, and decrease of KREC, a marker of B cell neogenesis, were observed in patients with EAOH. These results indicate that DNA double - strand break repair defects, in addition to DNA single - strand break repair defects, occur due to the mutations of APTX, which is a causative gene of EAOH. T cell and B cell developments were impaired in addition to nerve cells in EAOH.

研究分野：免疫学

キーワード：小児免疫 アレルギー 膠原病学

1. 研究開始当初の背景

眼球運動失行と低アルブミン血症を伴う早期発症型失調症 (Early onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia, EAOH)は、幼少期発症の常染色体劣性遺伝性の小脳失調症である。責任遺伝子は APTX であり、コードする aprataxin 蛋白(APTX)は、一本鎖 DNA 切断修復(Single Strand Break Repair, SSBR)に関与するとされている。

一方、毛細血管拡張性運動失調症 (Ataxia-Telangiectasia: AT; MIM: 208900)の原因である ATM 蛋白も、DNA 切断損傷修復に関与するが、DNA 二重鎖切断修復(Double Strand Break Repair,DSBR)に関与しているとされる。

EAOH 患者での免疫系の解析は報告がなく、解析する必要があると考え、本研究を計画した。

2. 研究の目的

EAOH の病態解明およびヒト免疫・神経細胞分化における APTX の DNA 損傷修復の意義を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

EAOH 患者を 9 名集め、その臨床データ、および免疫系の解析を行った。

臨床データは、身体所見、感染歴、末梢血リンパ球数、アルブミン値などを取得した。

免疫学的解析は、末梢血単核球の FACS 解析を行った。また、TREC, KREC 測定は末梢血を用い、real time PCR 法で測定した。

4. 研究成果

EAOH 国内患者 9 名を集め、その臨床症状を検討した。EAOH と AT は、小脳失調症状の特徴を共有するが、AT で認められる小脳失調以外の合併症(免疫不全、腫瘍罹患など)を EAOH では認めないとされてきた。今回の研究で、EAOH で AT と同様の毛細血管拡張を起こすことを見出した。明らかな易感染性歴は見出せなかったが、継続的な前向きの検討が必要であると考えられた。

また、EAOH 9 症例の免疫学的解析を施

行し、T 細胞、B 細胞の発生障害を合併していることを見出した。すなわち、EAOH ではナイーブ T 細胞の著減、B 細胞欠損、T 細胞新性能を示すマーカー TREC の低値、B 細胞新性能を示すマーカー KREC の低値を認めた。TREC/KREC は V(D)J 組み替えの時に生じる環状 DNA であることから、T 細胞と B 細胞の発生障害は DNA 二重鎖切断修復が関与する V(D)J 組み替えの異常によると考えられた。

本研究により APTX 異常により DNA 二重鎖切断修復異常が起き、その結果、神経細胞に加え、T 細胞、B 細胞の発生障害が起きる事を明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 9 件)

1. Cantaert T, Schickel J, Bannock, Ng Y, Massad C, Delmotte F, Yamakawa N, Glauzy S, Chamberlain N, Kinnunen T, Menard L, Lavoie A, Walter J, Notarangelo L, Bruneau J, Al-Herz W, Kilic S, Ochs H, Cunningham-Rundles C, Burg M, Kuijpers T, Kracker S, Kaneko H, Sekinaka Y, Nonoyama S, Durandy A, and Meffre E. Decreased somatic hypermutation induces an impaired peripheral B cell tolerance checkpoint. *J Clin Invest*. 2016, 126: 4289-4302.

2. Bonilla FA, Barlan I, Chapel H, Costa-Carvalho BT, Cunningham-Rundles C, de la Morena MT, Espinosa Rosales FJ, Hammarström L, Nonoyama S, Quinti I, Routes JM, Tang ML, Warnatz K. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016, 4:38-59.

3. Tsujita Y, Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Yeh TW, Mitsui 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, 138:1672-1680.e10.

4. Oshima K, Imai K, Albert M.H, Bittner T.C, Strauss G, Filipovich A.H, Morio T, Kapoor N, Dalal J, Schultz K.R, Casper J.T, Notarangelo L.D, Ochs H.D, Nonoyama S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for X-Linked Thrombocytopenia With Mutations in the WAS gene. **J Clin Immunol**. 2015, 35:15-21.

5. 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 L.D, Imai K, Nonoyama S. RAG1 deficiency may present clinically as selective IgA deficiency. **J Clin Immunol**. 2015, 35:280-288.

6. Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Sato H, Tomizawa D, Kajiwarra M, Nagasawa M, Morio T, Nonoyama S. Clinical features and hematopoietic stem cell transplantations for CD40 ligand deficiency in Japan. **J Allergy Clin Immunol**. 2015, 136:1018-1024.

7. Ma CS, Wong N, Rao G, Avery DT, Torpy J, Hambridge T, Bustamante J, Okada S, Stoddard JL, Deenick EK, Pelham SJ, Payne K, Boisson-Dupuis S, Puel A, Kobayashi M, Arkwright PD, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Minegishi Y, Mahdavian SA, Mansouri D, Bousfiha A, Blincoe AK, French MA, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Smart JM, Fulcher DA, Cook MC, Phan TG, Stepensky P, Boztug K, Kansu A,

İkinciogullari A, Baumann U, Beier R, Roscioli T, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Tangye SG. Monogenic mutations differentially affect the quantity and quality of T follicular helper cells in patients with human primary immunodeficiencies. **J Allergy Clin Immunol**. 2015, 136:993-1006.

8. Kreins A.Y, Ciancanelli M.J, Okada S, Kong X, Ramirez-Alejo N, Kilic S.S, Baghdadi J.E, Nonoyama S, Mahdavian S.A, Ailal F, Bousfiha A, Mansouri D, Nievas E, Ma C.S, Rao G, Bernasconi A, Kuehn H.S, Niemela J, Stoddard J, Deveau P, Cobat A, Azbaoui S.E, Sabri A, Lim C.K, Sundin M, Avery D.T, Halwani R, Grant A.V, Boisson B, Bogunovic D, Itan Y, Moncada-Velez M, Martinez-Barricarte R, Migaud M, Deswarte C, Alsina L, Kotlarz D, Klein C, Muller-Fleckenstein I, Fleckenstein B, Cormier-Daire V, Rose-John S, Picard C, Hammarstrom L, Puel A, Al-Muhsen S, Abel L, Chaussabel D, Rosenzweig S.D, Minegishi Y, Tangye S.G, Bustamante J, Casanova JL, and Boisson-Dupuis S. Human TYK2 deficiency: Mycobacterial and viral infections without hyper-IgE syndrome. **J Exp Med**. 2015, 212:1641-1662.

9. Cantaert T, Schickel JN, Bannock JM, Ng YS, Massad C, Oe T, Wu R, Lavoie A, Walter JE, Notarangelo LD, Al-Herz W, Kilic SS, Ochs HD, Nonoyama S, Durandy A, Meffre E. Activation-Induced Cytidine Deaminase Expression in Human B Cell Precursors Is Essential for Central B Cell Tolerance. **Immunity**. 2015, 17:43:884-95.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野々山 恵章 (NONOYAMA, Shigeaki)

防衛医科大学校小児科学講座・教授

研究者番号：40280961