

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17428

研究課題名（和文）極端な表現型に着目した新規自己炎症性疾患の原因遺伝子解明

研究課題名（英文）Identification of novel genes for autoinflammatory diseases focusing on extreme phenotypes

研究代表者

土田 奈緒美 (TSUCHIDA, Naomi)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：30847918

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：自己炎症性疾患(autoinflammatory diseases, AID) は、周期性発熱・関節炎・皮膚炎などを主症状とし、様々な臓器に炎症を生じる疾患で、免疫にかかわる様々な分子の遺伝子バリエーションに起因することが明らかになりつつある。本研究では、自己炎症疾患の原因となる遺伝子バリエーションの検出・新規の原因遺伝子の同定を目的に遺伝子解析を行った。新規疾患責任遺伝子の解析を進め、近年新たに同定された後天性自己炎症症候群のVEXAS症候群の遺伝子バリエーションを効率的に同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己炎症性疾患における遺伝学的原因解明は、患者の病態理解・治療に重要である。今まで、原因不明な症例として・別疾患として治療されてきた自己炎症性疾患の症例の一部に、遺伝子解析を通じて遺伝子診断に至る症例が多数含まれることが明らかになった。また、後天性バリエーションによる疾患の存在から、家系例のみならず孤発例にも着目することが重要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Autoinflammatory diseases (AID) are characterized by such as periodic fever, arthritis, dermatitis, and cause inflammation in various organs, caused by genetic variants in various molecules related to immune system. In this study, we performed genetic analysis to detect variants that cause autoinflammatory diseases and to identify novel causative genes. We promote the analysis of novel disease-responsible genes, and efficiently identified pathogenic variants of VEXAS syndrome, a newly identified acquired autoinflammatory syndrome in recent years.

研究分野：自己炎症性疾患

キーワード：自己炎症性疾患 全エクソーム解析

## 1. 研究開始当初の背景

自己炎症性疾患(autoinflammatory diseases, AID)とは、周期性発熱・関節炎・皮膚炎を主症状とし、あらゆる臓器に炎症を生じる希少難治病態の総称である。AIDは免疫にかかわる様々な分子の遺伝子バリエーションに起因するが、臨床的にAIDが疑われても原因遺伝子が判明しない患者は数多い。申請者らは2015年よりAIDの遺伝子解析に取り組み、重症あるいは非典型的の極端な表現型を呈するAIDの2症例より、全エクソーム解析を用いて重要な炎症経路にあることは判明しているものの、今まで疾患との関連が報告されていない新規の原因遺伝子候補を見出した。いずれも免疫・炎症反応経路に関わる遺伝子であることは報告されているが、疾患との関連は未報告であり、病態機序を解明する上で、遺伝子バリエーションと疾患発症のメカニズムを検証する必要がある。近年では自己炎症・リウマチ疾患において、特定のサイトカインを標的とした治療が普及しており、病態に関わる炎症経路やサイトカインを新たに明らかにできれば、診断に有用であるのみならず、既存の治療薬を治療応用できる可能性や新たな治療標的として創薬・治療開発を行うことも可能である。

## 2. 研究の目的

本研究では、AID症例の原因遺伝子の同定と病態機序の解明を目的とする。申請者らが既に検出している新規原因遺伝子候補の機能評価や、同遺伝子バリエーションを有する類似症例の集積を行う。また、既に集積している原因不明のAID症例の遺伝子解析を行い、新規疾患候補遺伝子の検出を試みる。

## 3. 研究の方法

### (1) 新規原因遺伝子候補の検証

重症あるいは非典型的の極端な表現型を呈するAIDの2症例より、重要な炎症経路にあることは判明しているものの、今まで疾患との関連が報告されていない新規の原因遺伝子候補を見出している。

本研究期間では、遺伝子に関わる炎症反応経路の評価として、患者PBMCを分離し刺激培養を行い、培養上清のサイトカイン分泌を測定し、健常人との違いを明らかにする。また、未診断疾患イニシアチブ Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases (IRUD)のモデル生物コーディネーティングネットワークプロジェクトによるモデル生物研究者とのマッチングやAIDに関する研究室と情報共有・意見交換を行い、炎症経路の機能検証について検討する。また、現在候補遺伝子にバリエーションを見出している症例はそれぞれ1例のみであり、遺伝子と疾患の関連の支持する根拠となる症例の更なる集積が必要である。申請者らが既に集積したAID症例の他、所属教室内の症例の全エクソーム解析データより、同遺伝子のバリエーションスクリーニングを行う。学内のみならず、GeneMatcherなどの研究者同士の情報共有データベースや共同研究先と情報交換を行い、学外からも類似症例の集積を試みる。

### (2) 原因不明のAID症例の遺伝学的原因解明

・既に集積したAIDの家系例・孤発例の遺伝子解析を進めて原因遺伝子の同定や目指すとともに、研究期間中も更に症例集積を進める。全エクソーム解析は、健常人データベースのバリエーション頻度情報やバリエーション機能予測プログラムを用いて病原性評価を行い、病原性が高いと判断されるバリエーションに関しては、Sanger法を用いて配列確認を行う。病的なSNVや短い挿入欠失の候補が見いだされない場合はエクソームシーケンスデータを用いたコピー数変化(CNV)解析を行う。新たな候補遺伝子を見出した場合は、機能評価や類似症例の集積を試みる。

・2020年に新たに報告された後天性の炎症症候群のVEXAS症候群の責任遺伝子のUBA1遺伝子について、通常のSangerシーケンスに加えて、PNA-clamping PCRとデジタルドロブレットPCRを用いて既知のバリエーションを高感度に検出する系を確立し、報告を行った。[1]この報告の更に発展させ、自・他施設からVEXAS症候群が疑われる患者検体を集積し、UBA1遺伝子解析と臨床像の検討を行う。

## 4. 研究成果

### (1) 新規原因遺伝子候補の検証

・機能解析：新規原因候補遺伝子の一つについて、遺伝子に関わる炎症反応経路の評価として、患者PBMCを分離し刺激培養を行い、培養上清のサイトカイン分泌を測定したところ、健常人と異なるパターンを示すことが示唆された。また、自施設での機能検証の他に、IRUDコーディネーティングネットワークプロジェクトに登録し、モデル生物研究者とマッチングし、情報交換を開始した。

・症例集積：既集積のAID症例・教室内の全エクソームの解析データから同遺伝子のバリエーションスクリーニングを試みたが、同遺伝子に候補バリエーションを持つ症例は検出することができなかった。GeneMatcherを用いて類似症例の集積を試みたが、研究期間中に同遺伝子に候補バリエーションを持つ症例は集積しなかった。

新たな症例が集積しないことから、現在検出している候補の2遺伝子はいずれも機能的に重要な遺伝子であり、現在の症例が非常に稀な症例であることが示唆される。症例数が少ないため、患者検体を用いた機能検証には限界があり、今後はモデル生物や細胞を用いた機能検証が必要であると考えられる。

(2) 原因不明の AID 症例の遺伝学的原因解明  
 ・ VEXAS 症候群の責任遺伝子の *UBA1* 遺伝子解析：  
 全国多施設共同研究として VEXAS 症候群疑い症例を集積し、既知バリエーションの PNA-clamping PCR, Sanger シーケンスを施行した。研究期間中に計 133 例の疑い症例を集積（研究開始時以前に集積していた症例も含む）・解析し、計 53 症例のバリエーション陽性例を検出した。新たな診断症例のうち、今まで他疾患として診断・治療されていた症例や、珍しい表現型を伴った症例について、症例報告を行った[2-7]（図 1）。また、Sanger シーケンスに加え、PNA-clamping PCR を併用することでバリエーションの有無をより明確に判断が可能であり、診断に有用であった（図 2）。

現在、詳細な遺伝子解析検討の知見や、コホート全体の症例検討の内容をまとめ、論文投稿中である。

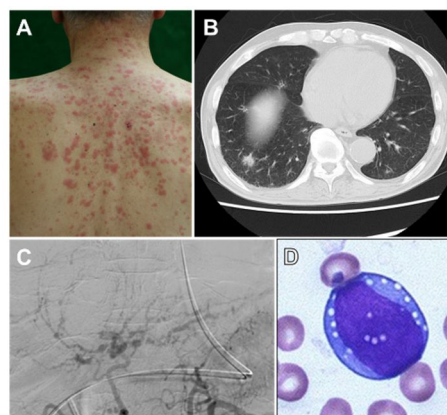


図 1: VEXAS 症候群に伴った様々な表現型  
 A. 結節性紅斑 B. 肺のすりガラス陰影 C. 多発肝動脈瘤 D. 赤芽球系前駆細胞の空胞像  
 A, B は文献[2]、C は文献[5]、D は文献[6]より引用

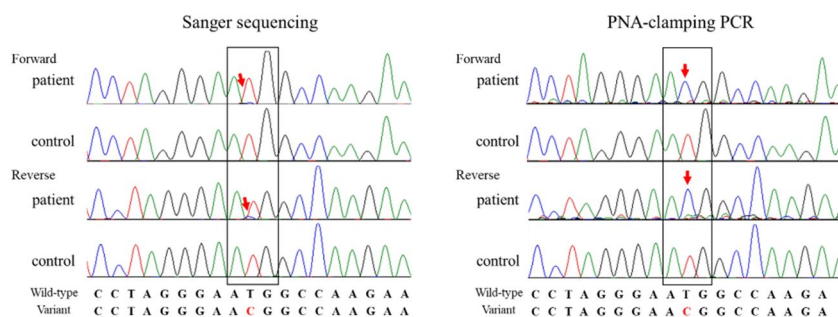


図 2: PNA-clamping PCR を併用した *UBA1* バリエーションの検証  
 患者ゲノム DNA を用いた通常の PCR 産物(左)と PNA-clamping PCR 産物(右)のサンガーシーケンスで *UBA1* の体細胞バリエーション (NM\_003334.3:c.122T>C p.Met41Thr) を認める (赤矢印). 文献[4]より引用

・既に集積した AID 家系例・孤発例の遺伝子解析：  
 研究期間中に 19 例の AID 症例の全エクソーム解析を行い、現在バリエーション解析を進め、一部の家系では、候補バリエーションを検出し、検討している。

今まで、原因不明として・別疾患として治療されてきた AID 症例の一部で、遺伝子解析により、遺伝子診断に至る症例が多数含まれることが明らかになった。また、後天性バリエーションによる疾患の存在からは、家系例のみならず孤発例の AID にも注目することが重要であると考えられた。今後の治療検討のためにも、AID 症例における遺伝学的解析が非常に有用であると考えられた。

< 引用文献 >

- 1 Tsuchida N, Kunishita Y, Uchiyama Y, et al. Pathogenic *UBA1* variants associated with VEXAS syndrome in Japanese patients with relapsing polychondritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2021;80(8):1057-61.
- 2 Matsubara A, Tsuchida N, Sakurai M, et al. A case of VEXAS syndrome with Sweet's disease and pulmonary involvement. *The Journal of Dermatology* 2022;n/a(n/a).
- 3 Matsumoto H, Asano T, Tsuchida N, et al. Behcet's disease with a somatic *UBA1* variant: Expanding spectrum of autoinflammatory phenotypes of VEXAS syndrome. *Clin Immunol* 2022;238:108996.
- 4 Matsumoto H, Fujita Y, Fukatsu M, et al. Case Report: Coexistence of Multiple Myeloma and Auricular Chondritis in VEXAS Syndrome. *Frontiers in immunology* 2022;13.
- 5 Itagane M, Teruya H, Kato T, et al. Clinical images: VEXAS syndrome presenting as treatment-refractory polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheumatol* 2022;74(11):1863-4.
- 6 Uchino K, Kanasugi J, Enomoto M, et al. VEXAS syndrome. *Int J Hematol* 2022;116(4):463-4.
- 7 Kunimoto H, Miura A, Maeda A, et al. Clinical and genetic features of Japanese cases of MDS associated with VEXAS syndrome. *Int J Hematol* 2023.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Uchino Kaori, Kanasugi Jo, Enomoto Megumi, Kitamura Fumiya, Tsuchida Naomi, Uchiyama Yuri, Maeda Ayaka, Kirino Yohei, Matsumoto Naomichi, Takami Akiyoshi	4. 巻 116
2. 論文標題 VEXAS syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 463 ~ 464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-022-03448-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Matsumoto H, Fujita Y, Fukatsu M, Ikezoe T, Yokose K, Asano T, Tsuchida N, Maeda A, Yoshida S, Hashimoto H, Temmoku J, Matsuoka N, Yashiro-Furuya M, Sato S, Murakami M, Sato H, Sakuma C, Kawashima K, Shakespear N, Uchiyama Y, Watanabe H, Kirino Y, Matsumoto N, Migita K.	4. 巻 13
2. 論文標題 Case Report: Coexistence of Multiple Myeloma and Auricular Chondritis in VEXAS Syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 897722
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2022.897722	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Itagane Masaki, Teruya Hiroyuki, Kato Tomohiro, Tsuchida Naomi, Maeda Ayaka, Kirino Yohei, Uchiyama Yuri, Matsumoto Naomichi, Kinjo Mitsuyo	4. 巻 74
2. 論文標題 Clinical images: VEXAS syndrome presenting as treatment refractory polyarteritis nodosa	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis & Rheumatology	6. 最初と最後の頁 1863 ~ 1864
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/art.42257	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamaguchi Hiroki, Kobayashi Daisuke, Nakamura Gen, Aida Ryo, Horii Yosuke, Okamoto Takeshi, Murakami Shuichi, Kondo Daisuke, Tsuchida Naomi, Uchiyama Yuri, Maeda Ayaka, Kirino Yohei, Matsumoto Naomichi, Kurosawa Yoichi, Hasegawa Eriko, Wakamatsu Ayako, Narita Ichiei	4. 巻 7
2. 論文標題 Acute heart failure due to left common iliac arteriovenous fistula: A case of VEXAS syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Modern Rheumatology Case Reports	6. 最初と最後の頁 327 ~ 333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/mrcr/rxac082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunimoto Hiroyoshi, Miura Ayaka, Maeda Ayaka, Tsuchida Naomi, Uchiyama Yuri, Kunishita Yosuke, Nakajima Yuki, Takase-Minegishi Kaoru, Yoshimi Ryusuke, Miyazaki Takuya, Hagihara Maki, Yamazaki Etsuko, Kirino Yohei, Matsumoto Naomichi, Nakajima Hideaki	4. 巻 -
2. 論文標題 Clinical and genetic features of Japanese cases of MDS associated with VEXAS syndrome	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12185-023-03598-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kirino Yohei, Takase-Minegishi Kaoru, Tsuchida Naomi, Hirahara Lisa, Kunishita Yosuke, Yoshimi Ryusuke, Nakajima Hideaki	4. 巻 80
2. 論文標題 Tocilizumab in VEXAS relapsing polycondritis: a single-center pilot study in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 1501 ~ 1502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2021-220876	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsubara Akihiro, Tsuchida Naomi, Sakurai Mai, Maeda Ayaka, Uchiyama Yuri, Sasaki Kaneshige, Haji Yoichiro, Kirino Yohei, Matsumoto Naomichi, Morita Akimichi	4. 巻 49
2. 論文標題 A case of VEXAS syndrome with Sweet's disease and pulmonary involvement	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e177-e178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16311	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsumoto H, Asano T, Tsuchida N, Maeda A, Yoshida S, Yokose K, Fujita Y, Temmoku J, Matsuoka N, Yashiro-Furuya M, Sato S, Irie K, Norikawa N, Yamamoto T, Endo M, Fukuchi K, Ohkawara H, Ikezoe T, Uchiyama Y, Kirino Y, Matsumoto N, Watanabe H, Migita K	4. 巻 238
2. 論文標題 Behcet's disease with a somatic UBA1 variant: Expanding spectrum of autoinflammatory phenotypes of VEXAS syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 108996 ~ 108996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clim.2022.108996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuchida Naomi, Kunishita Yosuke, Uchiyama Yuri, Kirino Yohei, Enaka Makiko, Yamaguchi Yukie, Taguri Masataka, Yamanaka Shoji, Takase-Minegishi Kaoru, Yoshimi Ryusuke, Fujii Satoshi, Nakajima Hideaki, Matsumoto Naomichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Pathogenic UBA1 variants associated with VEXAS syndrome in Japanese patients with relapsing polychondritis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of the Rheumatic Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/annrheumdis-2021-220089	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 内山由理, 土田奈緒美, 前田彩花, 松本聖生, 浅野智之, 松原章宏, 伊藤裕司, 赤尾敏之, 萩山裕之, 林遼廉, 國下洋輔, 山崎悦子, 國本博義, 桐野洋平, 松本直通, 中島秀明
2. 発表標題 VEXAS症候群にみられる造血異常の特徴
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田彩花, 土田奈緒美, 桐野洋平, 國下洋輔, 岸本大河, 峯岸薫, 吉見竜介, 中島秀明
2. 発表標題 UBA1バリエーション解析に基づく、本邦におけるVEXAS症候群疑い症例の多施設共同前向きコホート研究
3. 学会等名 第67回日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 土田奈緒美, 内山由理, 桐野洋平, 國下洋輔, 峯岸薫, 吉見竜介, 中島秀明, 松本直通
2. 発表標題 UBA1遺伝子変異を有する新規自己炎症性疾患VEXAS症候群・再発性多発軟骨炎患者の報告
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tsuchida N, Kunishita Y, Uchiyama Y, Kirino Y, Takase-Minegishi K, Yoshimi R, Nakajima H, Matsumoto N.
2. 発表標題 Pathogenic UBA1 variants in Japanese Patients with Relapsing Polychondritis.
3. 学会等名 2021 American College of Rheumatology / Association of Rheumatology Professionals (ACR/ARP) Annual Meeting
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土田奈緒美、桐野洋平、國下洋輔、峯岸薫、吉見竜介、中島秀明
2. 発表標題 本邦初のUBA1遺伝子変異を有する新規自己炎症性疾患VEXAS・再発性多発軟骨炎患者の報告
3. 学会等名 第65回 日本リウマチ学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>総説：土田奈緒美、内山由理：VEXAS症候群とは．血液内科，84(5)：789-796，2022．          総説：土田奈緒美、桐野洋平、吉見竜介：VEXAS症候群と日本人再発性多発軟骨炎におけるUBA1遺伝子バリエーション．リウマチ科，68(2)：210-219，2022．</p>
---

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------