

令和 4 年 4 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K23819

研究課題名（和文）若年性特発性関節炎の原因遺伝子と分子病態の解明

研究課題名（英文）Responsible genes and molecular pathogenesis of JIA

研究代表者

森谷 邦彦（Moriya, Kunihiko）

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：40646999

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：若年性特発性関節炎（以下JIA）は小児リウマチ疾患でもっとも頻度が高く、関節炎をきたすことがある。本研究では、JIA患者の末梢血検体よりDNAを抽出し、原因遺伝子候補の特定と病態への関与を明らかにし、遺伝子異常に応じたオーダーメイド治療の確立を図った。自己炎症症候群関連遺伝子によるJIA発症メカニズムの1つを、世界に先駆けて発見し論文報告を行った。また、難治性JIAの3家系において、エクソーム解析により既知の原因遺伝子によるJIAの診断を行い、そのうち1例は治療としてJAK阻害剤が有効であることを示した。更に全体を通して遺伝子診断結果を主治医へ報告し、臨床への迅速な還元を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳幼児期発症のJIAは自己炎症症候群との鑑別が難しく、その発症要因として遺伝的背景の影響が強いと考えられている。本研究では、研究代表者のこれまでの原発性免疫不全症の病態解析の研究成果を基盤として、JIAや自己炎症症候群の既知遺伝子の迅速な遺伝子診断系を確立した。また、自己炎症症候群関連遺伝子によるJIA発症の新たなメカニズムの1つを、世界に先駆けて発見し論文報告を行った。更に全体を通して遺伝子診断結果を主治医へ報告し、臨床への迅速な還元を行った。また、新規原因遺伝子の同定を含めたJIAの原因遺伝子同定を試み、それぞれの遺伝子異常に応じた治療戦略の構築を図る基礎を作ることができた。

研究成果の概要（英文）：Juvenile idiopathic arthritis is the most common chronic rheumatic disease of unknown aetiology in childhood and predominantly presents with peripheral arthritis. I established rapid mutation analysis for known responsible genes for JIA. I also identified disease entity from the patients with autoinflammatory syndromes as a novel mechanism by exome analysis, and reported as an article worldwide. In addition, I reported the results of gene analysis to the doctors and contributed to clinical rapid diagnosis and concise management for patients with JIA.

研究分野：免疫調節異常症の解明

キーワード：JIA 自己炎症症候群 エクソーム解析 DIRA CTLA4 LRBA STAT1 GOF

1. 研究開始当初の背景

小児自己免疫疾患の代表的な病因の1つである若年性特発性関節炎 (juvenile idiopathic arthritis: JIA) は、全身型と関節型(少関節型、多関節型)の2つに分類され、主に思春期～青年期に好発する。多因子遺伝性疾患と考えられているが、家族性の発症がみられ遺伝学的関与が示唆されており、その発症に関わる分子については未だに解明されていない。治療法としては炎症の制御を目的とした副腎皮質ステロイドを代表とする免疫抑制剤、近年では分子標的治療薬として抗 IL-6 阻害剤、IL-1 受容体拮抗薬などの薬物療法などが試みられている。しかし副腎皮質ステロイドの長期投与による副作用の問題や一部の症例は乳幼児期に発症し、自己炎症性疾患との鑑別が困難でこれらの内科的治療への反応が悪く、難治性の症例が多い。このように乳幼児期発症の JIA と診断されている病気の多くは自己炎症症候群との鑑別が難しく、その発症要因として遺伝的背景の影響が強いと考えられている。

研究者は、JIA として診断されていた 10 歳女児の次世代シーケンサーを用いた解析を行い、IL-1 レセプターアンタゴニストの欠損により起こる、常染色体劣性遺伝形式の自己炎症症候群の1つである DIRA(deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist)と診断した (Moriya K, et al. *J Clin Immunol.*, 2020)。このように自己炎症症候群と JIA は診断がオーバーラップすることがあり、遺伝子学的診断をすることで適切な治療介入ができるようになる可能性がある。研究者は自己炎症症候群や JIA に関する豊富な知識を有しており、自己炎症症候群に関わる遺伝子についてこれまで検討してきた経験があり、これらの知識と経験を総動員して、新規原因遺伝子の同定を含めた JIA の原因遺伝子同定を試み、それぞれの遺伝子異常に応じたオーダーメイド治療戦略の構築を図る基礎を作りたいと考えた。

2. 研究の目的

JIA は、本邦における有病率は小児人口 1 万人あたり約 1 人に発症すると考えられているが原因は不明である。まれに家族性の発症がみられ遺伝学的関与が示唆されているがその発症に関わる分子については未だに解明されていない部分が多い。治療の基本は副腎皮質ステロイドであったがその長期的使用による副作用が問題であり、近年サイトカイン阻害剤などの効果が認められている一方で治療不応性の症例も多く、その原因解明と病態に応じた治療が不可欠である。本研究では、JIA についてその末梢血検体より DNA を抽出し、原因遺伝子候補の特定と病態への関与を明らかにし、遺伝子異常に応じたオーダーメイド治療の確立を図る。

3. 研究の方法

研究者の所属する東北大学小児科血液・免疫グループと密接な連携をとっている宮城県立こども病院総合診療科と協力し、乳幼児期発症も含む自己炎症症候群、JIA の症例の中から保護者の書面による同意が得られた症例について、患者末梢血の採取を行い、DNA を抽出した。宮城県を含む東北 6 県においては、JIA を専門的に診断・治療出来る施設は限られており、ほとんどの症例が宮城県立こども病院総合診療科に紹介されてくるといっても過言でなく、関連学会や研究会でアピールすることで、効率よく患者検体の収集が可能であった。これらの患者検体を用いて、既知の自己炎症症候群の原因遺伝子変異を持つ症例がないか確認する。次に、図 1 のようにアレイ CGH 法を用いた網羅的解析を行い、健常者と異なる発現パターンを示す領域をチェックし、次世代シーケンサーを用いて確認した。

次に、既知の変異が見られなかった患者について、アレイ CGH 法を用いた網羅的解析を行い、患者において健常者と比較して特徴的な発現パターンを示す領域がないか確認し、可能であればご両親の検体との比較を行った。実際に変異が疑われる場合には、次世代シーケンサーを用いた解析を行って変異の有無を確認した。

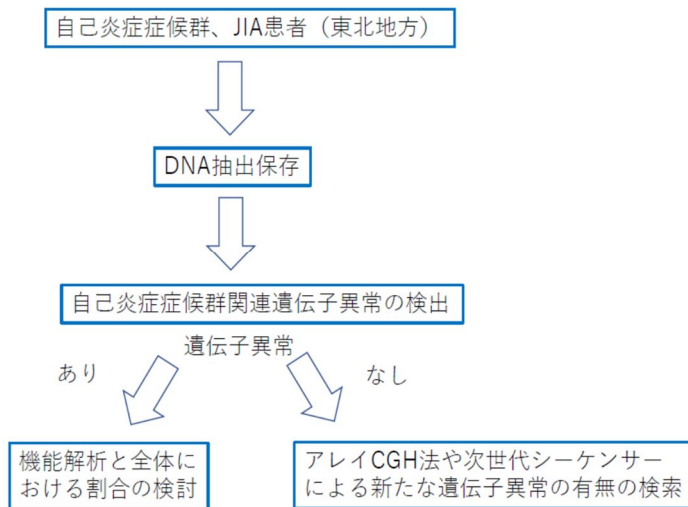


図 1. 本研究計画の全体像と目的

4. 研究成果

(1) JIA や自己炎症症候群における既知の原因遺伝子の遺伝子診断

JIA と診断された患者のエクソーム解析により、既知の遺伝子として CTLA4 ハプロ不全症、非典型的な経過を呈した LRBA 欠損症 (Totsune E and Moriya K, et al. *Front Immunol.*, 2021)、STAT1 機能獲得型変異 (Moriya K, et al. *Int J Hematol.*, 2020) を同定し、解析結果を英文論文として報告した。LRBA 欠損症は、診断により分子標的薬の投与の検討を行っている。また、STAT1 機能獲得型変異については遺伝子診断により、JAK 阻害剤を使用することで長期のステロイド投与から離脱でき、合併症の軽減につながった。

(2) 自己炎症症候群の既知遺伝子による新たなメカニズムによる JIA 発症機序の解明

研究代表者は、JIA として診断されていた 10 歳女児のエクソーム解析を行い、IL-1 レセプターアンタゴニストの欠損により起こる、常染色体劣性遺伝形式の自己炎症症候群の 1 つである DIRA (deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist) と診断した。DIRA は生後 1 か月以内に重篤な膿疱症、骨髄炎を起こすが本症例は JIA としてステロイド治療が行われており、臨床的に軽症である原因を解析したところ患者の変異体 (R26X を HEK-T 細胞にトランスフェクションし、C 末を認識する抗体でウェスタンブロッティングを施行したところ WT の IL-1RN よりも small size のバンドを検出 (図 2) し 2nd メチオニンからの reinitiation が起こっていること、また mutant (R26X) を含んだ Fusion protein は IL-1 刺激を抑制していることを示し、これにより late-onset の臨床経過を示したと考えられ、論文で報告した (Moriya K, et al. *J Clin Immunol.*, 2020)。同様の症例がその後 2 家系報告されており、今後 late-onset の自己炎症症候群の患者さんからのアプローチが有用と推測された。

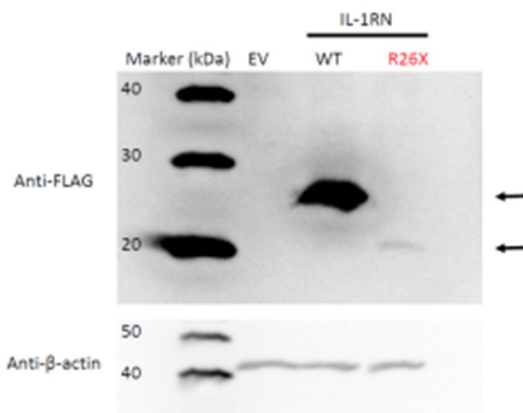


図 2: ウェスタンブロッティング

(3) 遺伝子解析結果の臨床への還元

遺伝子解析を施行した全症例において、変異の有無に関わらず遺伝子解析結果を速やかに主治医に報告した。これにより、JAK 阻害剤の使用や造血幹細胞移植の方針となった症例が存在しており、臨床へ広く還元することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Totsune E, Nakano T, Moriya K, Sato D, Suzuki D, Miura A, Katayama S, Niizuma H, Kanno J, van Zelm MC, Imai K, Kanegane H, Sasahara Y, Kure S	4. 巻 12
2. 論文標題 Infantile-Onset Fulminant Type 1 Diabetes Mellitus Caused by Novel Compound Heterozygous LRBA Variants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 6775772
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2021.677572.	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 該当する
1. 著者名 Moriya K, Kadowaki S, Nakano T, Akarcan SE, Kutukculer N, Aksu G, Sasahara Y, Kure S, Ohnishi H, Casanova JL, Puel A, Fukao T.	4. 巻 40
2. 論文標題 The IL1RN Mutation Creating the Most-Upstream Premature Stop Codon Is Hypomorphic Because of a Reinitiation of Translation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 643-645
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10875-020-00770-1	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 該当する
1. 著者名 Moriya K, Suzuki T, Uchida N, Nakano T, Katayama S, Irie M, Rikiishi T, Niizuma H, Okada S, Imai K, Sasahara Y, Kure S.	4. 巻 112
2. 論文標題 Ruxolitinib treatment of a patient with steroid-dependent severe autoimmunity due to STAT1 gain-of-function mutation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Hematology	6. 最初と最後の頁 258-262
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12185-020-02860-7	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 Okada S, Asano T, Moriya K, Boisson-Dupuis S, Kobayashi M, Casanova JL, Puel A	4. 巻 40
2. 論文標題 Human STAT1 Gain-of-Function Heterozygous Mutations: Chronic Mucocutaneous Candidiasis and Type I Interferonopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 1065-1081
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10875-020-00847-x.	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 該当する

1. 著者名 Nishimura S, Kobayashi Y, Ohnishi H, Moriya K, Tsumura M, Sakata S, Mizoguchi Y, Takada H, Kato Z, Sancho-Shimizu V, Picard C, Irani SR, Ohara O, Casanova JL, Puel A, Ishikawa N, Okada S, Kobayashi M.	4. 巻 41
2. 論文標題 IRAK4 Deficiency Presenting with Anti-NMDAR Encephalitis and HHV6 Reactivation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 125-135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10875-020-00885-5.	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 該当する

1. 著者名 Kuroda K, Moriya K, Nakano T, Saito R, Sato D, Katayama S, Niizuma H, Watanuki M, Uematsu M, Sasahara Y, Kure S.	4. 巻 68
2. 論文標題 A pediatric case of osteosarcoma and tuberous sclerosis complex with a novel germline mutation in the TSC2 gene and a somatic mutation in the TP53 gene.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pediatr Blood Cancer	6. 最初と最後の頁 e28960
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pbc.28960.	査読の有無 無
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11件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 森谷邦彦, 門脇沙織, 中野智太, 笹原洋二, 呉繁夫, 大西秀典, Jean-Laurent Casanova, Anne Puel, 深尾敏幸
2. 発表標題 The IL1RN mutation creating the most-upstream premature stop codon is hypomorphic because of a reinitiation of translation
3. 学会等名 第4回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戒能明, 森谷邦彦, 戸恒恵理子, 中野智太, 佐藤大地, 片山紗乙莉, 新妻秀剛, 今井耕輔, 金兼弘和, 笹原洋二, 呉繁夫
2. 発表標題 Infantile-onset fulminant type 1 diabetes mellitus caused by novel compound heterozygous LRBA variants
3. 学会等名 第83回日本血液学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kunihiko Moriya
2. 発表標題 Autosomal dominant RelA mutation causes autoinflammatory and autoimmune disorders
3. 学会等名 3rd Scientific Congress of Asia Pacific Society for Immunodeficiencies (APSID) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunihiko Moriya
2. 発表標題 Human Inborn Errors of the NF- B Pathway
3. 学会等名 第3回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunihiko Moriya
2. 発表標題 Utility of Ruxolitinib in a Boy with Severe Autoimmunity and Chronic Mucocutaneous Candidiasis Caused by a STAT1 Gain-of-Function Mutation
3. 学会等名 第3回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunihiko Moriya
2. 発表標題 The IL1RN mutation creating the most-upstream premature stop codon is hypomorphic because of a reinitiation of translation
3. 学会等名 第82回日本血液学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森谷 邦彦
2. 発表標題 ヨーロッパにおける男女共同参画、フランスを例にして
3. 学会等名 第123回日本小児科学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森谷 邦彦
2. 発表標題 Disseminated Fusarium infection within normal range of β -D glucan in a boy with aplastic anemia following sibling donor bone marrow transplantation
3. 学会等名 第82回日本血液学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunihiko Moriya
2. 発表標題 Autosomal dominant RELA haploinsufficiency causes autoinflammatory and autoimmune disorders
3. 学会等名 3rd Scientific Congress of Asia Pacific Society for Immunodeficiencies (APSID) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunihiko Moriya
2. 発表標題 Dominant negative RelA mutation causes autoinflammatory and autoimmune disorders
3. 学会等名 第124回日本小児科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Moriya K, Nakano T, Saito R, Sato D, Katayama S, Niizuma H, Watanuki M, Uematsu M, Sasahara Y, Kure S.
2. 発表標題 A pediatric case of osteosarcoma and tuberous sclerosis complex with a novel germline mutation in the TSC2 gene and a somatic mutation in the TP53 gene.
3. 学会等名 第63回日本小児血液・がん学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------