

令和 2 年 5 月 25 日現在

機関番号：74314

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19678

研究課題名(和文) TREX1遺伝子変異を用いたインターフェロン関連疾患の病態解析および治療法開発

研究課題名(英文) A study of Interferonopathy by TREX1 gene mutations

研究代表者

阿部 純也 (ABE, JUNYA)

公益財団法人田附興風会・医学研究所 第6研究部・研究員

研究者番号：40728028

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Aicardi-Goutieres症候群(AGS)、Familial Chilblain Lupus(FCL)の確定診断と新規患者集積のため、遺伝子検査を施行・継続した。これらInterferonopathyに属する類縁疾患は年々報告が増え続け、我々もその対象疾患を増やしていった。結果として、これまでに我々の行った検査によって遺伝子変異の確定したAGS患者は、AGS1(TREX1)6名、AGS2(RNASEH2B)1名、AGS4(RNASEH2A)1名、AGS5(SAMHD1)4名、AGS7(IFIH1)5名の計17名となり、SPENCD1(ACP5)患者も1名同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子検査の成果は、稀少疾患の認知度拡大や、それに伴う遺伝子検査の保険適応への拡大に大きく寄与した。現在ではAGS1-7(TREX1、RNASEH2B、RNASEH2C、RNASEH2A、SAMHD1、ADAR、IFIH1)の他、TMEM173、PSMB8、PSMB9、PSMB4、PSMA3、POMPの計13遺伝子が、保険適応検査となった。これにより一般医師からも遺伝子検査を提出できるようになり、稀少疾患の診断確定が容易になったと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We performed genetic analyses for the definitive diagnosis and the collection of new patients of AGS and FCL. As the new diseases related with Interferonopathy were increasing year after year, the analyzed genes were also increasing. As a result, we identified 17 AGS patients and 1 SPENCD1 patient. Of the 17 AGS patients harboring mutations, 6 harbored mutations in TREX1, 1 in RNASEH2B, 1 in RNASEH2A, 4 in SAMHD1 and 5 in IFIH1. A functional analysis with a recombinant TREX1 heterodimer or a culture at a low temperature could not progress remarkably.

研究分野：小児リウマチ・アレルギー

キーワード：AGS Interferonopathy 遺伝子検査 エクソーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦におけるAicardi-Goutieres症候群 (AGS) では、これまで非常に稀とされていたTREX1ヘテロ変異が3例存在している事が判明した。これらはすべて凍瘡様皮疹症状を認め、血清インターフェロン (IFN) 高値が遷延していた。またTREX1ヘテロ変異に関連する疾患として、家族性に凍瘡様皮疹を来たすFamilial Chilblain lupus (FCL) や全身性エリテマトーデス (SLE) などが挙げられ、これらは全てIFN関連疾患 (Interferonopathy) と考えられる。以上より、TREX1ヘテロ変異は凍瘡症状を来たしやすく、その機序としてIFN- α の関与が示唆された。

2. 研究の目的

本研究では、TREX1ヘテロ変異蛋白の解析を通して、Interferonopathyの病態解明やその治療法開発を目指す。

3. 研究の方法

我々が事前に行っていたAGS全国調査は、神経内科や小児神経の施設を中心としたものであった。しかしAGS・FCL患者は、リウマチ・膠原病内科、皮膚科、小児リウマチ科などでも診られている可能性は高い。そのためまずはこれら疾患の認知度を向上させ、疑い患者を集積する。その集積された患者に対して問診表から詳細な臨床症状を聴取し、AGS・FCL関連の遺伝子、特にTREX1遺伝子に関して遺伝子検査を行う。遺伝子検査の方法は、インフォームドコンセントをしっかりと行った後、文書で同意を得た上で、患者全血からDNAを採取・精製し、遺伝子検査を行う。検査は「AGSパネル」として次世代シーケンサーでの解析が可能であり、異常を認めた場合はダイレクトシーケンス (サンガー法) でも確認する。これらのDNA精製・ダイレクトシーケンス・次世代シーケンサーは京都大学大学院医学研究科発達小児科学教室やかずさDNA研究所とも協力して行う。

また新規変異が見つかった場合のTREX1機能解析系として、HaloTagを精製に利用した大腸菌発現系からのホモダイマー作成に我々は既に成功していた。そこから発展させ、2種類のTagを用いたヘテロダイマーを精製し、既に確立している2種類のTREX1機能解析方法 (ssDNA assay、dsDNA assay) で行う。

Interferonopathyの病態解明を進めていく系としては、末梢血中のどの細胞が主にIFN- α を強く発現しているかを検討するため、患者PBMCから各血球成分を分離し、色々な条件下で刺激した後のIFN- α 産生量ならびにmRNAを検討する。その際の培養条件として、通常の37℃の他に、寒冷誘発症状モデルとして28℃、32℃等の低温も条件として行い、通常培養条件下よりIFN- α 関連が増強するかを確認する。

4. 研究成果

AGS、FCLの確定診断と新規患者集積のため、遺伝子検査を施行したが、これらInterferonopathy関連疾患は年々報告が増え続け、我々もその度対象疾患を増やしていった。

結果として、これまでに我々の行った検査によって遺伝子変異の確定したAGS患者は、AGS1 (TREX1) 6名、AGS2 (RNASEH2B) 1名、AGS4 (RNASEH2A) 1名、AGS5 (SAMHD1) 4名、AGS7 (IFIH1) 5名の計17名となり、SPENCD1 (ACP5) 患者も1名同定した。これらの成果は、稀少疾患の認知度拡大や、

それに伴う遺伝子検査の保険適応への拡大に大きく寄与した。

現在ではAGS1-7(TREX1、RNASEH2B、RNASEH2C、RNASEH2A、SAMHD1、ADAR、IFIH1)の他、TMEM173、PSMB8、PSMB9、PSMB4、PSMA3、POMPの計13遺伝子が、保険適応検査となった。これにより一般医からも遺伝子検査を提出できる状態となり、検査の敷居は低くなったと考えるが、逆にこれまで可能であった本邦における全症例の把握が困難となった。

また遺伝子検査で異常が同定されない患者に対して適宜エクソーム検査を追加した。今後も新たな疾患が判明する可能性を残している。

レコンビナントTREX1ヘテロダイマーを用いた機能解析系の確立や、低温条件刺激下での培養系は著しい進歩が見られなかった。

全体を通して、稀少疾患であるために新規患者の集積に時間を要し、機能解析系・培養系に関しては今後の課題と思われた。ただしInterferonopathy全体の患者さんへの臨床応用につながると考えられ、我々は今後も継続していく方針である。

<引用文献>

Abe J, et al. Heterozygous TREX1 p.Asp18Asn mutation can cause variable neurological symptoms in a family with Aicardi-Goutieres syndrome/familial chilblain lupus. *Rheumatology (Oxford)*. 2013; 52: 406-8.

Abe J, et al. A nationwide survey of Aicardi-Goutières syndrome patients identifies a strong association between dominant TREX1 mutations and chilblain lesions: Japanese cohort study. *Rheumatology (Oxford)*. 2014; 53: 448-58.

Oda H, Nakagawa K, Abe J, et al. Aicardi-Goutières syndrome is caused by IFIH1 mutations. *Am J Hum Genet*. 2014; 95: 121-5.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 阿部純也、西小森隆太、平家俊男	4. 巻 76(10)
2. 論文標題 Aicardi-Goutieres症候群(AGS)、Spondyloenchondrodysplasia with immune dysregulation(SPENCDI)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本臨床	6. 最初と最後の頁 1815-1824
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 阿部純也、西小森隆太、平家俊男	4. 巻 Vol.57 No.8
2. 論文標題 わが国におけるAicardi-Goutieres症候群の臨床像	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 小児科	6. 最初と最後の頁 1017-1024
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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1件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 阿部純也
2. 発表標題 SLE様の表現型をしめすmonogenic disorder (Aicardi-Goutieres症候群)
3. 学会等名 第28回日本小児リウマチ学会総会・学術集会（招待講演）
4. 発表年 2018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
---------------------------	-----------------------	----