

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860840

研究課題名(和文) 乳児炎症性腸疾患の原因遺伝子と分子病態の解明

研究課題名(英文) The analyses of causative genes and their role for infantile inflammatory bowel disease

研究代表者

入江 正寛 (Irie, Masahiro)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：10597305

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)： 乳児期～学童早期(8歳未満)発症の難治性炎症性腸疾患(VEO-IBD)患者より保護者同意の下で末梢血検体を採取し、東北大学小児科にて全エクソーム解析を施行。33家系35症例の解析を行い、そのうちVEO-IBD発症と関連があると思われる既知の単一遺伝子異常は5例に見られた(IL-10 receptor A変異 2例、XIAP欠損症(XL P-type 2) 2例、慢性肉芽腫症(CGD) 1例)。

本邦でもVEO-IBD患者の中に免疫不全症関連の遺伝子異常を伴う症例が一定数含まれることが明らかになった。また、臨床経過と合わせて、診断・治療に関して適切な方針が提案出来る可能性を示した。

研究成果の概要(英文)： We analyzed the peripheral blood samples from very early onset-inflammatory bowel disease (VEO-IBD) patients, whose age less than 8 years old, on written informed consent from their guardians, and performed whole exome sequencing for detection and analyses of the causative genes and their role with Next generation sequencer in the department of pediatrics, Tohoku university.

We detected the causative genes of VEO-IBD in 5 of 35 cases/33 families, included 2 of IL-10 receptor A deficiency, 2 of XIAP deficiency, and 1 of Chronic granulomatous disease, each of which was documented with a causative gene of VEO-IBD due to the single gene alternation. We revealed that there were constant cases of VEO-IBD, associated with some immune deficiency diseases in Japan, and it will be possible that in the future we would make the appropriate proposal for diagnosis and treatment of VEO-IBD due to their causative genes and clinical information.

研究分野：小児血液・腫瘍学

キーワード：VEO-IBD 単一遺伝子異常 免疫不全症 全エクソーム解析

1. 研究開始当初の背景

小児期早期に発症する炎症性腸疾患 (very early onset-inflammatory bowel disease : VEO-IBD) は、遺伝学的な要因が成人型の IBD よりも強く関与していると考えられている。本邦においては、こうした VEO-IBD の患者の遺伝学的な要因に関してほとんど検討されておらず、VEO-IBD の患者検体を集積して解析することにより、遺伝子異常を基盤とした IBD 患者数の把握とそれぞれの病態に応じた治療法の提案が必要と考えられた。

2. 研究の目的

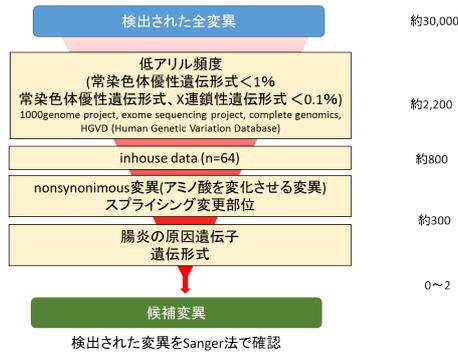
本邦における VEO-IBD 患者のうち、既知の遺伝学的要因が明らかに証明できる患者の割合を評価し、背景にある遺伝子異常 (疾患) によって治療法やそのタイミングを検討し、オーダーメイドな治療法の提案を目指す。

3. 研究の方法

- (1) 宮城県立こども病院総合診療科を中心に、全国 6 つの診療施設より保護者同意の下で VEO-IBD 患者および家族の末梢血を送付頂き、全エクソーム解析を行って既知の VEO-IBD 発症との関連が証明されている遺伝子変異の有無を検討する。

図1

絞り込み方法



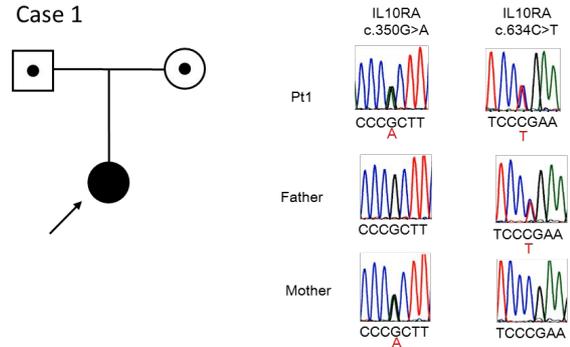
- (2) 臨床経過と照らし合わせながら、上記にて判明した遺伝子異常に伴う原疾患が存在することの確認を行う。
- (3) (1) で得られた遺伝子異常に関して、検体が十分に得られた症例においては、その機能解析を行う。
- (4) 既知の遺伝子異常が認められなかった検体に関しては、全エクソーム解析の結果から VEO-IBD の発症と関連がありそうな免疫学的異常に関わる遺伝子異常の有無を検討し、ご両親の検体が得られた症例では、

患児における De novo 変異と VEO-IBD 発症との関わりを評価する。

4. 研究成果

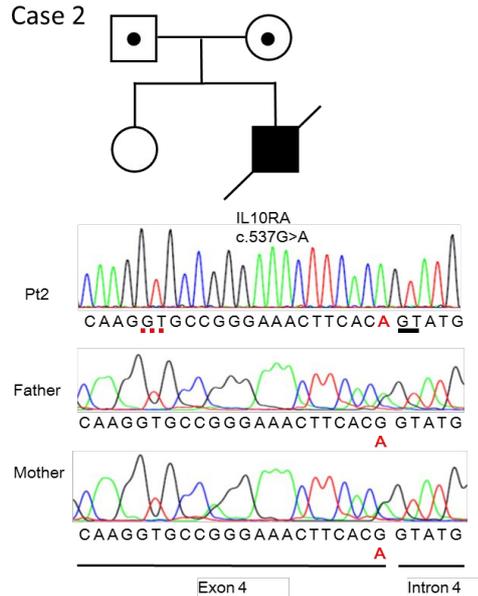
研究期間中に 33 家系 35 症例に関して全エクソーム解析を施行。そのうち VEO-IBD 発症と関連があると思われる既知の単一遺伝子異常は 5 例で認められた。その内訳は、IL-10RA 変異 2 例、XIAP 欠損症 (XLP type2) 2 例、慢性肉芽腫症 (CGD) 1 例であった。

Case 1

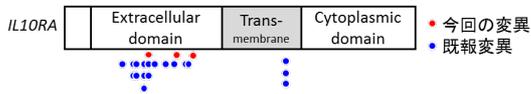


Case 1 はご両親のそれぞれがもつ変異アリルを受け継いだ形でコンパウンドヘテロで発症。

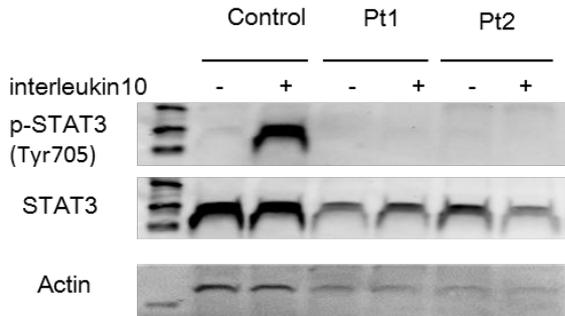
Case 2



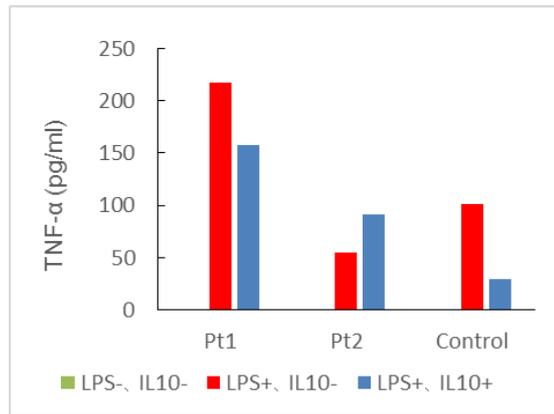
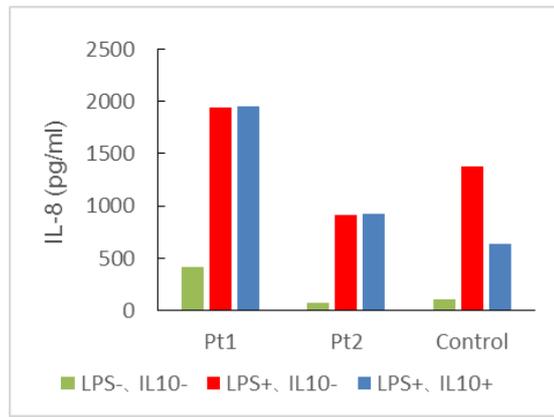
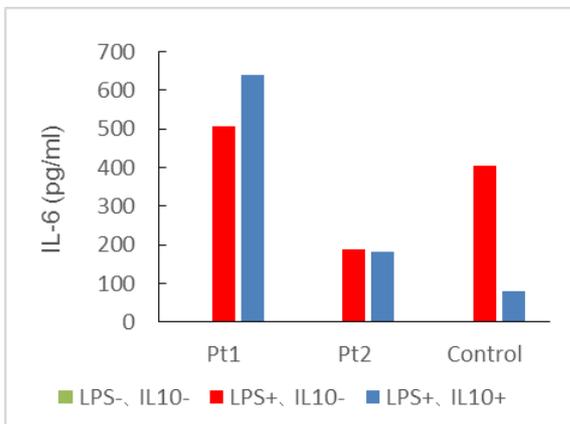
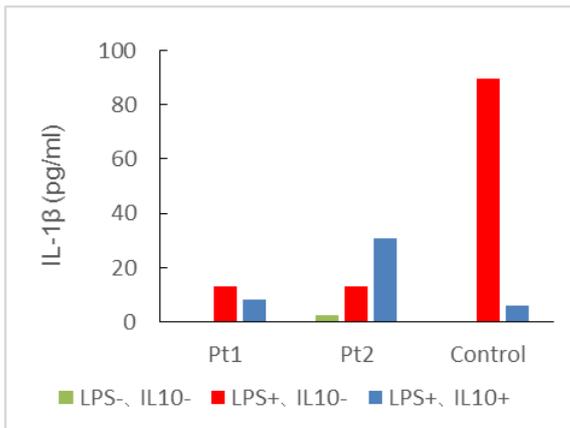
Case 2 はご両親から同じ変異をホモで受け継ぎ発症。



Case 1・2 では、既報の変異としても報告の多い、IL-10RA 遺伝子の細胞外ドメインの変異が見られた。

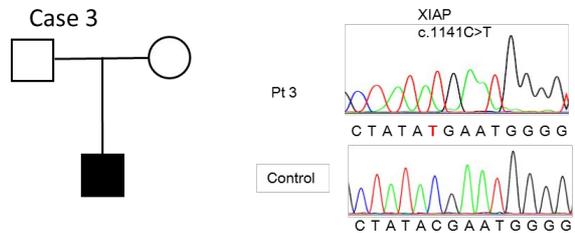


Case 1・2 に関して患者末梢血単核球の機能解析を行ったところ、IL-10 存在下でも下流のシグナル伝達が障害されているために STAT3 のリン酸化が見られないことが判明。

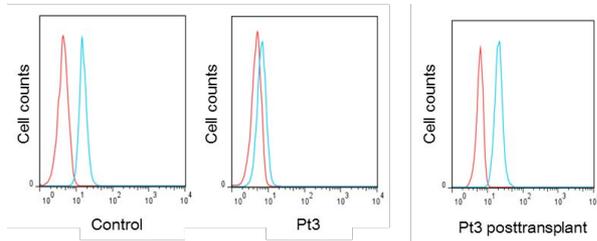


同様に Case 1・2 に関して患者末梢血単核球を培養してサイトカイン産生抑制能を検討。

共に LPS 存在下のサイトカイン産生は、IL-10 添加でも抑制されず、IL-10R を介した抑制シグナルが障害されていることを確認。

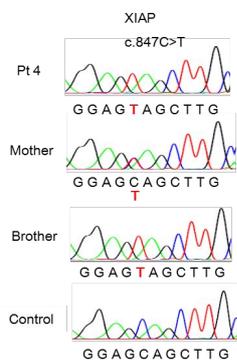
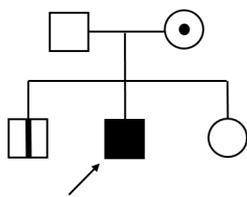


Case 3 はご家族の遺伝子検索は行えず、患者のみの変異にて診断。



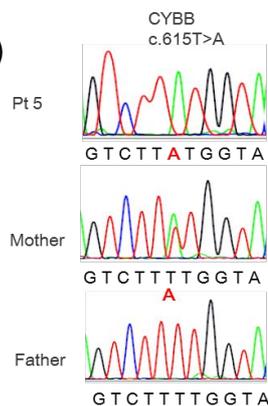
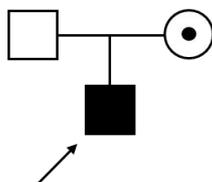
Case 3 では、疾患コントロール目的に造血幹細胞移植が施行され、移植後の正常な XIAP 蛋白の発現を認めた。IBD 症状も完全寛解。

Case 4

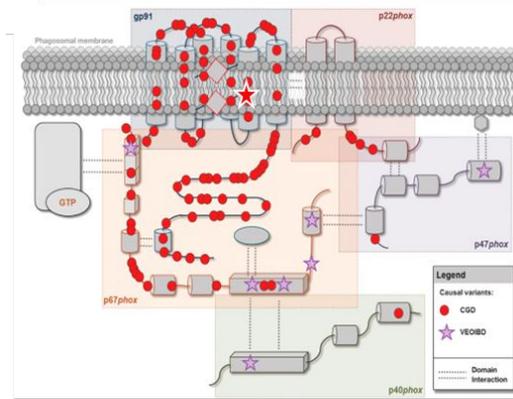


Case 4 は兄・患者・母親に共通の変異が受け継がれていることが判明。兄は未発症疾患遺伝子保持者。母は保因者。

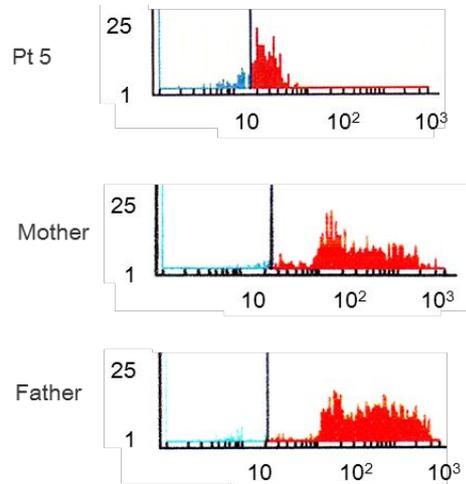
Case 5



Case 5 は CYBB 遺伝子変異はあるが、CGD としては発症なし。母は保因者。



- ★ 今回解析された症例
- ☆ CGDを来す変異
- VEO-IBDを来す変異



Case 5 では、CYBB 遺伝子変異部位が膜貫通領域であり、VEO-IBD 発症の報告はあるが、CGD 発症の報告はない領域であった。活性酸素産生能は低下しているものの、CGD を発症するには至らない程度と考えられた。

今回の研究において、本邦においても VEO-IBD の患者の中に一定数原発性免疫不全症関連の遺伝子変異を伴う症例が存在することが判明した。一部の症例は造血幹細胞移植が施行されて症状の完全寛解が得られており、こうした症例においては、臨床経過と合わせて適切な治療方針が提案できる可能性を示した。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

入江 正寛 (Irie, Masahiro)
東北大学・大学病院・助教
研究者番号：10597305

(2) 研究分担者

()
研究者番号：

(3) 連携研究者

()
研究者番号：