

日本人急性壊死性脳症の遺伝的素因

著者	星野 愛
学位授与年月日	2017-03-23
URL	http://doi.org/10.15083/00075970

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 星野 愛

本研究は、東アジアの乳幼児に報告が多く、感染後のサイトカイン過剰産生が主病態として推測されている急性壊死性脳症（ANE）の発症に関連する遺伝的素因を明らかにするため、日本人 ANE 31 症例を対象に病態から推測される候補遺伝子について変異の有無あるいは遺伝子多型頻度を解析しケース・コントロール関連分析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ANE と急性期の臨床経過及び画像所見が類似する欧米で報告がある常染色体優性遺伝形式を示す家族性再発性急性壊死性脳症（ANE 1）の原因遺伝子である *RANBP2* をひとつの候補遺伝子とした。患者末梢血よりゲノム DNA を抽出し PCR 法にて DNA 増幅し、直接塩基配列決定法または TA クローニングを用いて全エクソン解析を行った結果、全例で新規変異は検出されなかった。1 例に *RANBP2* の ZnF ドメイン内のヘテロ接合欠失（177bp）を認めたが、無症候性の母親も同領域の欠失を認め、健常日本人 111 人の解析でも 1 例に欠失を認めた（MAF0.0045）ことから、この欠失が単独で ANE の原因遺伝子となる可能性は低いと推測された。以上から孤発性日本人 ANE の遺伝的素因として *RANBP2* 遺伝子の関連はなく、欧米で稀に発症する ANE 1 と異なる遺伝背景が考えられた。
2. RanBP2 蛋白と結合して機能する Cox11 をコードする *COX11* についても全エクソン解析を行ったが、全例で新規変異及び遺伝子多型は検出されなかった。
3. Cox11 と同様にミトコンドリア呼吸鎖電子伝達系末端の酵素複合体IVに含まれる Cox10 及び Cox15 をコードする *COX10*, *COX15* は Leigh 症候群の原因遺伝子として報告されている。Leigh 症候群は急性増悪して急性脳症に類似する経過を示し、大脳基底核の両側対称性壊死性病変を認める点で ANE と類似することから *COX10*, *COX15* についても全エクソン解析を行った。*COX10* の exon3 に位置する SNP rs2230351 のマイナーアレル T の頻度が健常日本人群（13.4%）と比較し患者群で有意に高く（29.0%）、ANE の疾患感受性多型のひとつであることが示された。*COX15* 解析では全例に新規変異及び疾患発症に関連のある多型は認められなかった。
4. ANE 病態に感染後の過剰な免疫応答が関連していること、東アジア人に ANE の報告が多く発症頻度に人種間で違いがあることから *HLA* 多型を候補遺伝子とし

HLA-A, C, B, DRB1, DQB1, DPB1 の陽性率・アレル頻度について解析した結果、*A*31:01, DRB1*09:01, DQB1*03:03* のアレル型が ANE の疾患感受性遺伝子として示された。特に *DRB1*09:01* 及び *DQB1*03:03* の保有率は欧米人に比べ日本人一般人口で高い傾向にあることが日本人の ANE 罹患率が高い理由のひとつと推測された。

5. ANE の主病態はサイトカインストームが推測されていることからサイトカイン産生に関連が指摘されている *IL1B, IL6, IL10, TNFA* のプロモーター領域及び *IL8* の 3'末端領域の他の疾患で感受性が指摘されている遺伝子多型について解析した結果、ボンフェローニ補正後に有意差は認めなかったが *IL10* の完全連鎖不平衡関係にある rs1800871 及び rs1800872 で構成されるディプロタイプ CC/CC の頻度が ANE 群で 22.6%と健常日本人の保有率 (8.4%) と比較し高い傾向にあった。また、統計学的有意差は認めなかったが *IL6* rs1800796 のマイナーアレル G の保有率が ANE 群で 37.1%と健常日本人の保有率 (21.0%) と比較し高い傾向にあった。
6. 5. で解析した *IL10, IL6* 多型とサイトカイン産生量の検討では、健常日本人のリンパ芽球株を用い PMA (Phorbol 12-myristate 13-acetate) 刺激をし、48 時間後に細胞上清に分泌されるサイトカイン産生量を Bio-Plex®システムで定量解析した。その結果 *IL10* の rs1800871 及び rs1800872 のディプロタイプ CC/CC を保有する細胞株が TA/TA を保有する細胞株と比較し有意に細胞刺激前後の *IL10* 産生量比が低かった。*IL6* rs1800796 の遺伝子型は *IL6* 産生量に影響が示されなかった。
7. 今後も症例を集積した関連解析による検討が必要であるが、5. 及び 6. の結果から ANE のひとつの疾患感受性遺伝子として *IL10* の低産生に関連した *IL10* プロモーター領域多型 (rs1800871 及び rs1800872) のディプロタイプ CC/CC が推測された。

以上、本論文は ANE の発症に複数の遺伝子的素因が関連していることを明らかにした。ANE の罹患率が日本人に高い理由のひとつとしてリスクファクターである *DRB1*09:01* 及び *DQB1*03:03* の一般人口における保有率が欧米人に比べ日本人で高い傾向にあることが示された。また、サイトカイン産生に関連する遺伝子多型解析では *IL10* 低産生に関連した多型が疾患感受性因子であり、感染後の過剰免疫応答の抑制がかかりにくいことによる生体恒常性の破綻が関与することが推測され、サイトカインストームが ANE の主病態である可能性を支持する初めての報告となった。今後本研究が ANE 病態を探る研究基盤となり、発症メカニズムの全貌解明及び将来の特異的治療開発の一助になる可能性が期待され、学位の授与に値するものと考えられる。