

論文の要旨

申請者 小倉友美

研究論文題目

SCID パネルを用いた targeted resequencing による重症複合免疫不全症と毛細血管拡張性運動失調症の迅速遺伝子診断の臨床応用

1 目的

重症複合免疫不全症 (severe combined immunodeficiency、SCID) はリンパ球の数や機能の著しい異常に加え、無又は低ガンマグロブリン血症を伴う原発性免疫不全症 (primary immunodeficiency、PID) である。生後早期より易感染性を示す重篤な遺伝子異常症であり、根治治療を行わなければ生後2年以内に致死的となるため、早期診断が重要である。

また、毛細血管拡張性運動失調症 (ataxia telangiectasia、AT) は歩行開始時から明らかになる進行性運動失調症、免疫不全症、高頻度の腫瘍発生、内分泌異常症、放射線高感受性、毛細血管拡張などを特徴とする、多臓器に渡る障害が進行性に認められる遺伝性疾患である。

本研究では、SCID 及び関連疾患を疑われた、または AT の患者検体について TREC (t-cell receptor excision circles) ・KREC (kappa-deleting recombination excision circles) を定量し、PID を分類した。SCID パネルの targeted resequencing を行い、原因遺伝子同定を試みた。更に、解析後の臨床経過を調査し、これらが治療や予後に寄与できるか検討することを目的とした。

2 対象並びに方法

2014年12月から2018年5月にSCIDパネルの targeted resequencing を依頼された症例を解析対象として登録した。これらは、臨床症状やリンパ球表面抗原解析、画像検査からSCIDを疑われた症例およびATの症例である。

患者の臨床情報を登録した後、TREC・KREC 定量を行い、PID を分類した。原因遺伝子の同定には、SCID パネルを用いた targeted resequencing を行った。さらに、原因遺伝子が同定できた国内 SCID 症例について、感染症の有無、治療、予後の解析を行った。

3 結果

症例は、PID が 104 例、保因者疑いが 2 例、AT が 8 例の計 114 例であった。TREC が感度未満で 2 歳未満の症例を SCID 疑い、TREC が感度未満で 2 歳以上または TREC が低値の症例を CID、TREC が正常の症例をその他の PID

として分類した。解析結果の内訳は、SCID 疑い 47 例、CID 疑いが 39 例、その他の PID 症例が 18 例であった。さらに SCID 疑い症例のうち、KREC が低値から正常のものを T^B⁺SCID 疑い、KREC が感度未満のものを T^B⁻SCID 疑いと分類したところ、T^B⁺SCID 疑いが 23 例、T^B⁻SCID 疑いが 24 例であった。

原因遺伝子変異が同定できたものは、SCID 疑い 47 例中 34 例（72%）、CID 疑い 39 例中 4 例、その他の PID 18 例中 1 例で、保因者疑い例 2 例中 2 例、AT 症例 8 例中 6 例であった。

原因遺伝子が同定できた 34 例の SCID について感染歴を調査した結果、感染歴を有した症例が 31 例であり、感染部位は肺、皮膚、腸管の順に多かった。また、原因微生物別では、CMV などのウイルス感染症、Candida などの真菌感染症、さらに細菌感染症が認められた。国内の 14 症例について治療と予後を解析したところ、11 例は造血幹細胞移植を受けそのうち 9 例（82%）が生存、1 例は移植待機中、ADA-SCID の 2 例は酵素補充療法を受けそのうち 1 例（50%）が生存していた。

4 考 察

日本では PID 患者を PIDJ (primary immunodeficiency database in japan) に登録し、専門施設へ相談もしくは解析依頼をすることが可能である。これら専門施設でリンパ球表面抗原解析などを行った後に、SCID を疑われた症例が当科に紹介された。多くの症例で重症または難治性の感染症を合併しており、迅速な診断が必要とされた。当科の開発した targeted resequencing は最短 2 日で解析が可能であるため、診断後速やかに治療につなげることが可能であった。国内の 14 症例中 13 例は造血幹細胞移植や酵素補充療法などの根治療法へ進み、残り 1 例も造血幹細胞移植待機中である。

海外の症例は 5 例を除き、インドから紹介された症例であった。インドでは、PID に対する認識や解析施設が不足しているために、確定診断前に死亡している症例が多い。このようなリンパ球表面抗原解析を行うことが出来なかった症例でも、ゲノム DNA サンプルが残っていれば、TREC・KREC 解析を行うことにより病型分類が可能であることを示した。これらの解析で遺伝子診断できた 12 例のうち、紹介時に生存していた症例は 3 例のみであり、死亡 5 例、不明 4 例であった。PID は遺伝性疾患であるため、たとえ死亡例であっても確定診断しておくこと、次子への早期診断や治療に生かすことが可能となり、感染症発症前の対処という観点から有用であると考えられた。

5 結 論

保因者 2 例を含む PID 114 例および AT 8 例において、TREC・KREC 解析及び NGS による SCID パネルの targeted resequencing を行った。SCID 疑いの 47 例

中 34 例（72%）で原因遺伝子を同定し、国内症例では迅速に治療に結び付けることが可能であった。CID 疑いの 39 例中 4 例で原因遺伝子を同定した。CID と考えられる症例の中に SCID の原因遺伝子の変異が同定される症例があったことから、臨床像のみから原因遺伝子を疑うことは難しく、網羅的遺伝子解析が診断に有用であることが示唆された。