論文の内容の要旨

１　申　請　者

防衛医科大学校　田村　義輝

２　論文題目

眼球運動失行と低アルブミン血症を伴う早期発症型失調症（early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia: EAOH）9 例の免疫学的検討

３　論文の内容の要旨（博士：2,000 字程度）

低アルブミン血症と眼球運動失調を伴う早期発症型失調症（early-onset ataxia with ocular motor apraxia: EAOH）は、DNA 一本鎖切断修復（DNA single strand break repair: DNA SSBR）に関与する aprataxin（APTX）蛋白（コード遺伝子 *APTX*）の変異によって引き起こされる神経変性疾患である。遺伝性脊髄小脳変性症のひとつで、常染色体潜性の遺伝形式をとる。

EAOH の神経学的異常は､幼少期より小脳失調症状が出現し、小児期には眼球運動失行が起こり、20 歳までには歩行困難から車椅子が必要となる。このような特徴は、毛細血管拡張性運動失調症（ataxia-telangiectasia: AT）の患者と類似する。AT は､DNA 二本鎖切断修復（DNA double strand break repair: DNA DSBR）に関与する ataxia telangiectasia mutated（ATM）蛋白の変異によっておこり、神経変性の他にも、毛細血管拡張、免疫不全、悪性腫瘍の合併、放射線高感受性などの臨床的特徴を持つ。

この AT 患者で認める免疫不全は、リンパ球の分化障害である。リンパ球が分化し、多様性を獲得するためには、V(D)J 遺伝子再構成が重要である。この過程は、RAG（recombination activating gene）によって、免疫グロブリン遺伝子または T 細胞受容体（T cell receptor: TCR）遺伝子の切断が行われた後､DNA 修復機構を用いて再構成される。この修復機構は、DNA DSBR の主経路である非相同末端結合（classical non-homologous end joining: C-NHEJ）を主に用いている。すなわち､DNA DSBR の障害があると､V(D)J 遺伝子再構成が行えず、リンパ球の分化障害となる。AT の他にも DNA DSBR の障害によって免疫不全を生じる疾患は存在するが、一方で、DNA SSBR と免疫学的異常の関係は明らかではなかった。

今回、幼少期から小脳失調を認め、臨床的に AT と診断されていた患者が、遺伝子解析の結果、原因となる変異が ATM ではなく APTX にあることが判明し、EAOH と診断を修正した例を経験した。さらに、この患者では、$CD4^{+}$T 細胞の減少が認められた。この症例をきっかけに EAOH 患者でも免疫学的異常が生じる可能性を考え、検討を行った。

研究方法は、はじめに日本国内の EAOH 患者 9 名（男性　4 名、女性　5 名、年齢　6-59 歳）の臨床情報を収集した。その患者の血液検体をもとに、AT で

認められるリンパ球分化障害に焦点をあてて、解析を行った。その内容は、フローサイトメトリーによるリンパ球表面抗原解析、T 細胞新生能の評価に用いられる T-cell recombination excision circles（TRECs）及び B 細胞新生能の評価に用いられる kappa-deleting element recombination circles（KRECs）の解析、TCR の多様性の評価のために、TCR レパトア解析、CDR3（complementarity determining region 3, 相補性決定領域）の長さを評価するスペクトラタイピングである。また、患者リンパ球を用い、放射線感受性を解析した。

結果は、患者 9 名全例で *APTX* の変異が認められた。臨床的には、全例で運動失調症状を認め、成人例では確認できた範囲で全例が車椅子を必要としていた。免疫不全を疑わせるような感染症を反復するという経過は全例で認めなかった。一方で、免疫学的には、9 名中 8 名で何らかの異常を認めた。異常の内訳は、B 細胞減少、KRECs 低値、低ガンマグロブリン血症、$CD4^{+}$T 細胞減少、$CD8^{+}$T 細胞減少、CD4/8 比の逆転、TRECs 低値であった。これらの免疫学的異常は、B 細胞及び T 細胞などリンパ球の分化障害により起きる異常と考えられた。また、TCR レパトア解析を行った EAOH 患者の $CD8^{+}$T 細胞において、レパトアの減少を認めた。このことは、$CD8^{+}$T 細胞がオリゴクローナルに分化し、一部のレパトアしか獲得できなかったことを示しており、$CD8^{+}$T 細胞の発生障害があると考えられた。さらに、EAOH 患者由来のリンパ球では軽度の放射線感受性があることを見出した。このことからは、EAOH 患者リンパ球では、放射線によって生じる DNA の障害を修復する機構に異常があると考えられた。

このような結果から、APTX が DNA SSBR だけでなく、DNA DSBR に影響する可能性が考えられた。APTX と相互作用する蛋白質に、X-ray repair cross complementing group 4 protein（XRCC4）や mediator of DNA damage checkpoint protein1 (MDC1) などが知られている。XRCC4 は DNA LigaseⅣとともに、C-NHEJ に関与し、また、MDC1 は、DNA 二本鎖切断部位に早期に動員され、次いで DNA 修復経路の調整に関わる蛋白質を動員する働きを持つ。以上のように、APTX が相互作用する蛋白質を介して、DNA DSBR に関与し、リンパ球分化障害や放射線感受性の一因となる可能性が考えられる。やはり、DNA DSBR に動員される ATM 蛋白などの異常と比較すると、影響が少ないことが想定されるが、このことは免疫学的にも放射線感受性もいずれも軽度な異常であったという結果に合致している。

以上の通り、EAOH 患者で T 細胞、B 細胞の分化障害があることを明らかにした。T 細胞、B 細胞の分化障害が DNA DSBR 異常によると考えると、APTX は、DNA SSBR だけでなく、DNA DSBR へ影響している可能性がある。今後、TCR, B 細胞受容体の次世代シークエンサーによる解析や、他の SSBR 関連遺伝子異常症における免疫異常を検討することで、リンパ球分化における SSBR と DSBR のクロストークについて明らかにすることが可能になると思われる。

４　キーワード（５個程度）

「低アルブミン血症と眼球運動失調を伴う早期発症型失調症」、
「DNA 一本鎖切断修復」、「DNA 二本鎖切断修復」、
「免疫学的異常」、「放射線感受性」