

# 原発性免疫不全症における原因遺伝子の復帰に関する研究

著者	和田 泰三
著者別表示	Wada Taizo
雑誌名	平成19(2007)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2006-2007
ページ	7p.
発行年	2008-04
URL	<a href="http://doi.org/10.24517/00050619">http://doi.org/10.24517/00050619</a>



---

原発性免疫不全症における原因遺伝子  
の復帰に関する研究

---

18591186

平成18年度～平成19年度科学研究費補助金  
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成20年4月

研究代表者 和田 泰三

金沢大学附属図書館



1300-05176-0

医学部附属病院助教

IN

3

---

原発性免疫不全症における原因遺伝子の復帰に関する研究

---

1 8 5 9 1 1 8 6

平成18年度～平成19年度科学研究費補助金  
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

金沢大学附属図書館



1300-05176-0

平成20年4月

研究代表者 和田 泰三

金沢大学医学部附属病院助教

著 者 寄 (大印)

## <はしがき>

一般に遺伝性疾患において、その原因遺伝子の変異は何世代にもわたり引き継がれることから、遺伝子変異は安定であると考えられてきた。しかし近年、遺伝子変異が正常もしくは正常に近い配列に復帰する現象 (gene reversion) の存在が知られてきた。このような reversion が一部の体細胞に起こると、体細胞において正常細胞と異常細胞が混在するモザイクの状態が生じることになる。原発性免疫不全症においてこの reversion が起こった際には、機能を回復した細胞がもとの異常を持った細胞に対して増殖優位性を持つ場合が多く、病態の詳細な解析により原因遺伝子の生体内での機能の解明に役立つと考えられる。また症例によっては、機能回復した細胞により臨床症状の改善あるいは修飾を起こすことがあり、「自然の遺伝子治療」として注目されている。実際、我々は Wiskott-Aldrich 症候群 (WAS) において、このような reversion を有する症例を兄弟例を含めて数多く見出し、①reversion により機能を回復した T 細胞は生体内において WAS T 細胞に対し増殖優位性を示すこと、②reversion により機能を回復した細胞は加齢とともにその比率が高まること、③またそれに伴い臨床症状が劇的に改善した例があることなどを初めて明らかに報告してきた。

現在のところ reversion を引き起こすメカニズムは不明な点が多いが、少なくとも3つの機構、すなわち intragenic recombination、gene conversion、DNA polymerase slippage があることが知られている。このうち、DNA polymerase slippage が関与した reversion は、我々が報告したように同一家系内の複数人に見られる場合があり、従来考えられていた以上の高頻度で起こっている可能性がある。しかし、どのような条件が整うと reversion が起こり得るのかは全くわかっていない。

そこで本研究では、非典型的な経過や所見を示し、reversion が疑われる WAS 等の原発性免疫不全症症例の病態解析を行い様々な知見を集めるとともに、in vitro の実験として WAS をモデルに reversion に関する基礎的な検討を行うことを目的とする。後者では、レトロウイルスベクターにより reversion を起こした既知の変異を有する WASP 遺伝子を遺伝子導入した線維芽細胞を用いて、薬剤等による種々の刺激を細胞に加え、reversion が誘導できるか否かを検討する。最終的に reversion の誘導に成功すれば、現行の遺伝子治療に代わり得る新たな治療法の開発につながるものと期待される。

## 研究組織

研究代表者：和田 泰三（金沢大学医学部附属病院助教）

## 研究経費

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成18年度	2,000,000	0	2,000,000
平成19年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	3,500,000	450,000	3,950,000

## 研究発表

（1）雑誌論文

1. Tone Y, **Wada T\***, Shibata F, Toma T, Hashida Y, Kasahara Y, Koizumi S, Yachie A. Somatic revertant mosaicism in a patient with leukocyte adhesion deficiency type 1. *Blood*. 2007;109:1182-1184. 査読有
2. **Wada T\***, Maeba H, Ikawa Y, Hashida Y, Okumura A, Shibata F, Tone Y, Inoue M, Koizumi S, Takatori H, Sakai Y, Kaneko S, Yachie A. Reactive peripheral blood plasmacytosis in a patient with acute hepatitis A. *Int J Hematol*. 2007;85:191-194. 査読あり
3. **和田泰三\***、谷内江昭宏. Omenn 症候群. 小児内科増刊号（小児疾患の診断治療基準）. 2007 ; 38 : 239-240. 査読なし
4. Shibata F, Toma T, **Wada T**, Inoue M, Tone Y, Ohta K, Kasahara Y, Sano F, Kimura M, Ikeno M, Koizumi S, Yachie A. Skin infiltration of CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>-</sup> natural killer cells in a case of X-SCID with Omenn syndrome-like manifestations. *Eur J Haematol*. 2007;79:81-85. 査読有
5. **Wada T\***, Kurokawa T, Toma T, Shibata F, Tone Y, Hashida Y, Kaya H, Yoshida T, Yachie A. Immunophenotypic analysis of Epstein-Barr virus (EBV)-infected CD8<sup>+</sup> T cells in a patient with EBV-associated

- hemophagocytic lymphohistiocytosis. Eur J Haematol. 2007;79:72-75. 有
6. Okamoto H, Arii C, Shibata F, Toma T, **Wada T**, Inoue M, Tone Y, Kasahara Y, Koizumi S, Kamachi Y, Ishida Y, Inagaki J, Kato M, Morio T, Yachie A. Clonotypic analysis of T cell reconstitution after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in patients with severe combined immunodeficiency. Clin Exp Immunol. 2007;148:450-460. 査読有

(\*corresponding author)

(2) 学会発表

1. **Wada T**, Tone Y, Shibata F, Toma T, Ohta K, Kasahara Y, Koizumi S, Yachie A. Somatic revertant mosaicism in a patient with leukocyte adhesion deficiency type 1. 12th Meeting of the European Society for Immunodeficiencies (ESID). Oct., 2006. Budapest, Hungary.
2. T細胞に遺伝子変異の reversion (復帰) を認めた白血球接着異常症の1例. 刀裯裕美, **和田泰三**, 柴田文恵, 金兼千春, 東馬智子, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏. 第56回日本アレルギー学会秋季学術大会. 2006年11月. 東京.
3. 遺伝子変異の reversion により CD18 陽性 T細胞の出現を認めた白血球接着異常症 I型の1例. **和田泰三**, 刀裯裕美, 柴田文恵, 東馬智子, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏. 第45回北陸臨床免疫症例検討/研究会. 2006年7月. 金沢.
4. TおよびNK細胞が出現し Omenn 症候群様症状を呈した非典型的 X連鎖重症複合免疫不全症の1例. **和田泰三**, 東馬智子, 横山忠史, 笠原善仁, 小泉晶一, 谷内江昭宏, 安井昌博, 井上雅美, 河敬世. 第35回日本臨床免疫学会総会. 2007年10月. 大阪.
5. Omenn 症候群様症状を呈した非典型的 X-SCID にみられた遺伝子変異の reversion. **和田泰三**, 東馬智子, 刀裯裕美, 笠原善仁, 小泉晶一, 安井昌博, 井上雅美, 河敬世, 谷内江昭宏. 第1回日本免疫不全研究会. 2008年1月. 東京.

(3) 図 書

1. 小泉晶一，谷内江昭宏，笠原善仁，犀川太，**和田泰三**．小児血液・免疫の広い分野でブレイクする一を目指す - 金沢大学小児科で発見された新しい疾患「ヘムオキシゲナーゼ1 (HO-1) 血症」をめぐって - 最新・血液内科シリーズ Vol. 20 私と仲間たち Vision. [監修] 高久史麿 [発行] 大日本住友製薬株式会社. 2007年3月.

## 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

該当するものなし

## 研究成果

本研究成果の概要を以下に記す。詳細は、後ろに添付する学会誌等発表論文の別冊を参照されたい。

1) 原発性免疫不全症の臨床例の解析において、我々は、遺伝子変異の復帰 (reversion) を認めた白血球接着異常症1型 (LAD-1) の乳児例を世界で初めて発見し報告した (Blood 2007)。LAD-1は、白血球上の $\beta 2$ インテグリン (CD18) の欠損による原発性免疫不全症で、重症細菌感染症、白血球異常増多、臍帯脱落遅延、創傷治癒遅延を特徴とする。患児はCD18遺伝子に新規の2つの変異をもつ複合ヘテロ接合体であり、CD18が欠損していたが、リンパ球のごく一部にCD18陽性細胞が認められた。同細胞は、CD3陽性CD8陽性のT細胞で、T細胞レセプターV $\beta 22$ を有するシングルクローンであった。患児への母体血の混入は否定され、父親由来のスプライス変異が消失していたことより、患児の1つのCD8陽性T細胞においてreversionが起きたと考えられた。本研究により原発性免疫不全症における新たなreversion例が見出され、また、reversionはprogenitorレベルだけではなくある程度成熟した細胞でも起こり得ること、CD18陽性T細胞はCD18陰性T細胞に対して増殖優位性を有すること、reversion症例では必ずしも臨床症状の改善や修飾がみられないことなど、種々の重要な知見を得ることができた。

2) さらに我々は、これまで世界で1例しか報告されていない遺伝子変異の

reversion を認めた X 連鎖重症複合免疫不全症 (XSCID) の乳児例を見出した (Blood に投稿中)。XSCID は、サイトカインレセプターである  $\gamma c$  鎖の異常に起因し、T や NK 細胞の発生が障害されることが特徴である。しかし患児では、自己 T/NK 細胞が出現しているばかりか、Omenn 症候群様の症状も呈した。RAG 遺伝子には異常を認めず、 $\gamma c$  鎖を解析したところ発現は低下し、*IL2RG* 遺伝子解析にて変異 IVS1+5G>A を認めた。患児では、スプライス異常により premature termination となるが、一部に正常 mRNA も作られていることから T/NK 細胞の発生が障害されなかったと考えられた。また、患児末梢血から不死化 T 細胞株を樹立したところ、 $\gamma c$  鎖発現の正常なクローンが得られ、同クローンでは、第二変異により正常のスプライシングのみが生じていた。末梢血リンパ球亜群や皮膚浸潤リンパ球を解析したところ、主に皮膚浸潤リンパ球に第二変異が検出された。皮膚では、CD8<sup>+</sup>T 細胞がクローン性に増殖しており、本クローンが第二変異を有している可能性や皮疹と関連している可能性が示唆された。以上より、XSCID の臨床スペクトラムは幅広く、また復帰変異は病態を修飾する重要な因子となる得ることが示された。

3) in vitro の実験として計画している Wiskott-Aldrich 症候群をモデルとした復帰変異の誘導実験に関しては、WASP 遺伝子と薬剤耐性遺伝子の融合遺伝子を発現するベクターを構築が終了し、感染性ウイルスを産生する段階にあり、基礎実験を継続している。今後の発展が期待される。

以上、今回の研究では、遺伝子変異の復帰を認める原発性免疫不全症を新たに 2 例見出し、その臨床的意義と分子生物学的基盤を明らかにした。原発性免疫不全症における遺伝子変異の復帰は、従来考えられていたよりも高頻度で起きている可能性があり、今後の症例の蓄積、機序の解明が多いに期待される。