

| | |
|-------------|---|
| Title | Aicardi-Goutieres Syndrome is Caused by IFIH1 Mutations(Abstract_要旨) |
| Author(s) | Oda, Hirotsugu |
| Citation | Kyoto University (京都大学) |
| Issue Date | 2016-03-23 |
| URL | https://doi.org/10.14989/doctor.k19625 |
| Right | |
| Type | Thesis or Dissertation |
| Textversion | ETD |

| | | | |
|--|--|----|-------|
| 京都大学 | 博士（医学） | 氏名 | 小田 紘嗣 |
| 論文題目 | Aicardi-Goutières Syndrome is Caused by <i>IFIH1</i> Mutations (<i>IFIH1</i> 遺伝子変異はアイカルディ・グティエール症候群の原因となる) | | |
| <p>(論文内容の要旨)</p> <p>Aicardi-Goutières 症候群 (AGS) は乳児期に発症し①中枢神経症状 (発達遅滞、てんかんなど)、②頭蓋内石灰化、③中枢神経炎症所見 (髄液細胞数増多、インターフェロン(IFN)-α 上昇など)、④TORCH 症候群など周産期感染症が証明されないこと、を特徴とする遺伝性脳症である。AGS 患者の一部に全身性エリテマトーデス (SLE) などの自己免疫疾患や凍瘡様皮疹を合併する例が存在する。これまで AGS の病態として、細胞内核酸代謝に関与する遺伝子群の機能低下変異により、蓄積した核酸がパターン認識受容体 (PRR) に認識され、その結果 I 型 IFN の転写が亢進するという機序が考えられていた。</p> <p>本研究では本邦にて行った AGS の全国調査において同定された、既報告遺伝子群に変異を認めない AGS 患者 3 例を対象とした。3 例全例が乳児期発症の重症精神運動発達遅滞、中枢神経炎症所見、頭蓋内石灰化、自己抗体産生を呈し、かつ胎内感染が証明されなかったことから AGS の典型例と考えられたが、一方 3 例とも SLE の診断基準を満たさず、また凍瘡様皮疹を呈さなかった。家系内健常者を陰性対照としたトリオエクソーム解析を行い、3 例全例の <i>IFIH1</i> 遺伝子に <i>de novo</i> ヘテロミスセンス変異 (p. L372F, p. A452T, p. R779H) を同定した。これらの変異は dbSNP、HGVD および内部データといった変異データベースに登録を認めなかった。<i>IFIH1</i> がコードする MDA5 タンパクは二本鎖 RNA (dsRNA) をリガンドとする細胞質内 PRR であり、リガンドとの結合により MDA5 が重合することで MAVS 重合、IRF3 リン酸化を通じて I 型 IFN 転写が亢進し、その結果 IFN 関連遺伝子 (ISGs) の転写亢進が生じるとされる。タンパク質構造の <i>in silico</i> モデリングでは 3 つの変異アミノ酸残基は MDA5 の ATP 結合ポケット、dsRNA との接合部位、隣接する MDA5 タンパクとの境界面にそれぞれ位置し、これらの変異は様々な機序で疾患発症に関わっていることが示唆された。また実際に患者末梢血単核球の RTqPCR では 7 種類の ISGs の転写亢進を認め、これは既報告の AGS 患者のデータに合致する結果であった。</p> <p>次に変異の病原性を確認する目的でヒトヘパトマ由来細胞株 Huh7 に <i>IFIH1</i> cDNA を強制発現させ下流の <i>IFNB1</i> 遺伝子の転写活性をルシフェラーゼアッセイで測定したところ、3 種の AGS 患者変異 <i>IFIH1</i> は野生型 <i>IFIH1</i> に比して <i>IFNB1</i> の転写活性を亢進させた。この転写亢進は過去にゲノムワイド関連解析で SLE などの自己免疫疾患と関連が報告されている p. A946T 変異によるものよりも強かった。さらに変異 MDA5 の刺激応答性を検討するため、これら変異 <i>IFIH1</i> を <i>Ifih1</i> ノックアウトマウス線維芽細胞に強制発現させたのち、MDA5 特異的リガンドである脳心筋炎ウイルス (EMCV) を感染させ <i>Ifnb</i> 発現量を RTqPCR で検討した。野生型 <i>IFIH1</i> は EMCV 依存的に <i>Ifnb</i> 発現を亢進させたのに対し、AGS 患者変異は <i>Ifnb</i> 発現を亢進させなかった。これは船曳らが報告した SLE 腎炎様所見を呈するマウスの MDA5 p. G821S 変異の結果と矛盾しないものであり、これらの変異 MDA5 タンパク質にリガンド応答性が欠如していることを示唆した。</p> <p>本研究では AGS の新規責任遺伝子として <i>IFIH1</i> を同定した。核酸の蓄積のみならず PRR の機能獲得変異によっても AGS が生じることが示された。変異 MDA5 タンパク質が I 型 IFN を過剰産生する分子機序に関しては、今後さらなる研究が必要であると考えられた。</p> | | | |

(論文審査の結果の要旨)

Aicardi-Goutières 症候群 (AGS) は脳症に加え自己免疫疾患など多彩な表現型を呈する遺伝性疾患である。その病態の本質は I 型インターフェロン (IFN) の過剰産生であり、細胞内核酸代謝に関わる 6 種の責任遺伝子が報告される一方で、責任変異が同定されない症例も存在する。本研究では本邦全国調査にて同定された、既報告遺伝子に変異を認めない AGS3 家系にエクソーム解析を行い、3 例全例に *IFIH1* 遺伝子 (MDA5) に新規突然発症のヘテロミスセンス変異を同定した。蛋白質構造の検討では 3 変異は MDA5 の機能上重要な位置に存在し、変異が蛋白質機能に影響を与えうる可能性が考えられた。また患者末梢血単核球において IFN 関連遺伝子の発現亢進を認め、I 型 IFN 過剰産生が示唆された。変異 MDA5 は無刺激下で *IFNB1* 転写を恒常的活性化させる一方、特異的リガンドである EMCV 刺激に反応せず、IFN 過剰産生は外因性リガンド非影響下に生じると考えられた。これらは *Ifih1* 機能獲得変異に伴い SLE 類似の表現型を示すマウスの既報告と一致し、変異 MDA5 蛋白質の活性化機序の考察に際し示唆に富む結果と考えられた。

以上の結果から本研究は *IFIH1* を AGS の新規責任遺伝子として同定した。以上の研究は AGS の病態機序の解明に貢献し、自己免疫疾患発症における MDA5 の役割の理解に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 28 年 3 月 2 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降