

膠原病における全エキソームシーケンスを用いた病態の解明

桐野洋平

横浜市立大学大学院医学研究科 幹細胞免疫制御内科学

【研究の背景】

臨床における遺伝学的解析の重要性が大きくなっているが、膠原病領域では遺伝情報の臨床応用には至っていない。しかし、一部の家族例の解析では原因遺伝子の同定により治療に直結する結果が報告されており、膠原病領域における遺伝学的解析をさらに推進する意義は大きい。

【目的】

次世代シーケンサーを用いた遺伝学的解析を通じて炎症性疾患における病態の解明や後天的遺伝子変異導入の有無を検証し、遺伝学に基づいた診断・分類・治療法開発の礎にする。

【方 法】

濃厚な家族歴を有する炎症性疾患や、極端な表現型(extreme phenotype)を有する患者と同胞より、ゲノム倫理委員会で承認された同意書を得た上で、末梢血を得た。ゲノムDNAを抽出し、次世代シーケンサー Illumina HiSeq2500 (Illumina, San Diego, CA, U.S.A.) を用いて全エキソームシーケンスを行った。参照パネル[Database of single nucleotide polymorphisms(dbSNP) 137, the 6,500 exomes of the National Heart, Lung, and Blood Institute exome project(ESP6500), The Exome Aggregation Consortium(ExAC), Human Genetic Variation Database (HGVD), 東北大学 東北メディカル・メガバンク機構(ToMMo)]にある既知の変異を、データより除去した。確からしい変異に関してはサンガーシーケンスを行って確認した。

【結 果】

家族性のベーチェット病 4 家系、痛風1家系、孤発性の自己炎症性疾患を疑う症例1症例より DNA を得た。平均 Coverage は 85、90%以上で Coverage 20×が得られ、良好なシーケンス結果であった。Total Call は約 6000-7000 で inhouse data・既存の SNP データベース(上記)で 1%以上、synonymous 変異を除いてスクリーニングを行ったところ、rare variant を持つ遺伝子数は約 200～300 程度に絞り込まれた[AD モデルで 200 前後、AR モデル(ホモ・ヘミ・コンパウンドヘテロ)合わせて 30 程度]また、エクソームデータを用いたコピー数多型解析も併用した。ベーチェット病1家系より、自己炎症性疾患の原因遺伝子変異が見いだされ、現在確認作業中である。

【考 察】

今回の解析を通じて成人の膠原病患者にもメンデル遺伝形式をとる炎症性疾患患者が含まれていることが確認できた¹⁾。1人当たり約 300 個の新規変異が見いだされることが再確認され、本手法の解析の難しさも実感した。最近報告された家族性ベーチェット病の解析では、NF κ B 抑制因子である A20(TNFAIP3)の機能低下型変異により NF κ B 系の過剰が起こ

ることが報告されている²⁾。しかし、今回の家族性ベーチェット病解析では A20 の変異は見つからなかった。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

このような全エキソーム解析を継続することで、病気の原因遺伝子を同定できれば、炎症性疾患の病態解明と治療戦略に結びつく可能性が高い。今後さらに症例を蓄積していく予定である。

【参考・引用文献】

1. Kirino Y, Remmers EF: Genetic architectures of seropositive and seronegative rheumatic diseases. *Nature reviews Rheumatology* 2015, 11(7):401-414.
2. Zhou Q, Wang H, Schwartz DM, Stoffels M, Park YH, Zhang Y, Yang D, Demirkaya E, Takeuchi M, Tsai WL et al: Loss-of-function mutations in TNFAIP3 leading to A20 haploinsufficiency cause an early-onset autoinflammatory disease. *Nature genetics* 2016, 48(1):67-73.