

氏 名	さい とう めぐむ 齋 藤 潤
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3226 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Disease-associated CIAS1 mutations induce monocyte death, revealing low-level mosaicism in mutation-negative cryopyrin-associated periodic syndrome patients (疾患に関連した CIAS1 遺伝子の変異は単球の細胞死を誘導し、変異陰性のクライオパイリン関連周期熱症候群患者における低頻度モザイシズムの存在を明らかにする)
論文調査委員	(主 査) 教 授 三 森 経 世 教 授 真 鍋 俊 明 教 授 長 田 重 一

論 文 内 容 の 要 旨

背景；クライオパイリン関連周期熱症候群（Cryopyrin-associated periodic syndrome: CAPS）は、3つの自己炎症性疾患、すなわち、familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS、MIM #120100)、Muckle-Wells syndrome (MWS、MIM #191900)、および CINCA 症候群（chronic infantile neurological, cutaneous, articular syndrome, MIM #607115）の総称である。これら3疾患は、いずれも CIAS1（cold-induced autoinflammatory syndrome 1）遺伝子と、それによってコードされる cryopyrin と呼ばれる蛋白のミスセンス変異により発症する。しかし、臨床的に診断された CAPS 患者の一部、特に CINCA 症候群の約半数では、通常のゲノム DNA ダイレクトシーケンスでは変異が同定されず、これらの患者の遺伝的背景は不明であった。近年、CIAS1 変異を体細胞モザイクとして持つ CAPS 患者例が確認され（参考論文 1）、これらの変異陰性患者の遺伝的背景に通常のゲノム DNA シーケンスでは同定できない変異 CIAS1 のモザイシズムが関与している可能性が考えられた。

目的；CAPS 患者の遺伝的背景を明らかにするために、日本国内における CIAS1 変異陰性患者において、潜在的な CIAS1 モザイシズムが関与しているか検討する。

方法；Cryopyrin は単球に主に発現しており、IL-1 β 産生に関与する。変異陰性患者における潜在的なモザイシズムを同定するため、まず、日本国内の CAPS 患者 11 名を対象に、その遺伝的背景を確認した。6 名が変異陽性、4 名が変異陰性であり、1 名は既知のモザイク患者であった。まず変異陽性患者の単球を用いて、CIAS1 変異を持つ単球に特徴的な生物学的性質を探索した。次いで、その性質を用いて、変異陰性患者の末梢血に存在しうると考えられる、変異を持つ単球のみを分離することを試みた。

結果；種々の検討の結果、変異陽性患者の単球を培養し、lipopolysaccharide (LPS) で刺激すると、急速な細胞死が誘導されることを発見した。また、既にモザイクと診断されている患者の末梢血単核球を LPS で刺激すると、変異を持つ単球のみが選択的に細胞死に陥り、変異を持たない単球は細胞死を来さなかった。細胞死は cathepsin B 依存性で、以前にヒト単球系 THP-1 細胞で報告された変異型 CIAS1 依存性細胞死と同様の機序が示唆された（参考論文 2）。この現象を利用して、変異陰性患者の末梢血単核球を LPS で刺激し、細胞死に陥った単球をソートして、DNA を採取し、シーケンスを行った。この方法により、変異陰性患者 4 例中 3 例に新たな CIAS1 変異が同定された。これらの患者では、末梢血全血における変異アレルの割合は約 4–7%であり、低頻度のモザイシズムの存在が確認された。

結論；今回の研究で今回の研究で通常のシーケンスでは変異が見つからない CAPS 患者の大部分は、潜在的な CIAS1 変異をモザイクとして持つことが明らかになった。また、CIAS1 変異を持つ単球は、LPS 刺激により急速に細胞死を来すことが明らかとなった。これらの結果は、CAPS の遺伝的背景を明らかにし、病態を考える上で、重要な知見であり、今後患者の診断に有用である。

論文審査の結果の要旨

クライオパイリン関連周期熱症候群（Cryopyrin-associated periodic syndrome: CAPS）は、CIAS1 遺伝子のミスセンス変異により発症する。しかし、CAPS 患者の一部では通常の方法では変異が固定されず、これらの患者の遺伝的背景は不明であった。申請者は、CIAS1 変異を体細胞モザイクとして持つ CAPS 患者例を報告し、変異陰性患者の発症に変異 CIAS1 のモザイシズムの関与を提唱した。そこで、日本国内における CIAS1 変異陰性患者において、CIAS1 モザイシズムの関与を検討した。対象の CAPS 患者 11 名のうち、6 名が変異陽性、4 名が変異陰性であり、1 名は既知のモザイク患者であった。変異陽性患者の単球を LPS で刺激すると、細胞死が誘導されることを発見した。この現象を利用して、変異陰性患者の末梢血単核球を LPS で刺激し、細胞死に陥った単球をソートしたところ、変異陰性患者 4 例中 3 例に新たな CIAS1 変異が固定され、潜在的モザイシズムの存在が明らかになった。

以上の研究は、CAPS の病態及び遺伝的背景の解明に貢献し、患者の診断・治療に寄与するとことが多い。

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 20 年 2 月 13 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。