

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	田 中 尚 子
論文題目	High Incidence of <i>NLRP3</i> Somatic Mosaicism in Patients With Chronic Infantile Neurological, Cutaneous, Articular syndrome: Results of an International Multicenter Collaborative study (chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome 症候群患者において <i>NLRP3</i> 体細胞モザイクは高率にみとめられる：海外多施設共同研究)		
(論文内容の要旨)			
CINCA 症候群は <i>NLRP3</i> インフラマゾーム異常活性化による <i>IL-1β</i> 過剰産生に伴い全身炎症を生じる自己炎症疾患である。約半数の患者で <i>NLRP3</i> 遺伝子にヘテロミスセンス変異が同定されるがそれ以外の患者の病因は不明であった。<i>NLRP3</i> 遺伝子体細胞モザイクを有する本邦 4 症例の経験からその意義づけ及び臨床像を明らかにすべく海外 5 カ国の CINCA 症候群主要研究施設の協力のもと、<i>NLRP3</i> 遺伝子体細胞モザイクの検討を行った。 通常のサンガー法を用いた遺伝子解析において <i>NLRP3</i> 遺伝子変異陰性であった CINCA 症候群患者 26 症例をケースとし、健康患者家族（両親、同胞を含む）19 例をコントロールとした。全血あるいは末梢血単核球より抽出した DNA 検体を用いて、<i>NLRP3</i> 遺伝子変異のホットスポットである Exon3,4,6 を、サブクローニング法にて遺伝子解析をおこなった。患者群では 18 症例（69.2%）に <i>NLRP3</i> 遺伝子体細胞モザイクを同定したが、19 例の患者家族にはいずれも同定されず <i>NLRP3</i> 遺伝子体細胞モザイクの CINCA 症候群発症との強い相関が示された(18/26 vs. 0/19 P<0.0001)。なおモザイク頻度は 4.2～35.8%（median:10.2%, mean±SD:12.1±7.9%）であった。 体細胞モザイク変異として同定された 13 種の <i>NLRP3</i> 遺伝子変異のうち、6 種がヘテロミスセンス変異として既報告であり、7 種が新規変異であった。各変異に対して <i>NLRP3</i> インフラマゾーム活性化の指標として、ASC 依存性 NF-κB 活性化能、ヒト単球細胞株 THP-1 における細胞死誘導能の 2 種の in vitro 機能解析をおこなった。新規 <i>NLRP3</i> 遺伝子変異においては既報告変異と同等あるいはそれ以上の疾患関連性を有することが確認され、今回同定された体細胞モザイク変異の疾患関連性が証明された。 また各個体内での細胞種によるモザイク頻度の差の有無を明らかにすべく、4 症例の患者で、好中球、T リンパ球、B リンパ球、単球、頬粘膜細胞の 5 種でのモザイク頻度を検討したが、一個体内における細胞種別のモザイク頻度に有意差はみとめなかった。以上の結果はモザイクの発症が発生初期段階にあることを示唆した。 モザイク患者の臨床像を明らかにすべく、ケース症例の背景、臨床経過、臨床症状情報を各患者主治医による質問表への回答に基づいて集積しその検討をおこなった。<i>NLRP3</i> 遺伝子変異の部位により症状の重症度が異なるため、ヘテロミスセンス変異として既報告である 6 変異に着目し、文献的にヘテロミスセンス変異患者での臨床症状の把握が可能であった 5 遺伝子変異座について遺伝子座をそろえてヘテロミスセンス変異患者とモザイク変異患者での臨床像の			

比較をおこなった。全身症状、関節症状に明らかな差はみとめなかったが、モザイク変異患者において精神発達遅延症例はみとめず神経症状の軽症傾向がみとめられた。また、今回のケース症例の中でモザイク変異群と遺伝子変異陰性群とにわけて臨床像の比較をおこなったがその検討においても、モザイク群での精神発達遅延の発症率は有意に少なくモザイク患者での神経症状の軽症化傾向が確認される結果を得た。

NLRP3 遺伝子体細胞モザイクは CINCA 症候群の重要な遺伝子要因であり、CINCA 患者全体の約三割前後に及ぶ事が判明した。今後 *NLRP3* 遺伝子体細胞モザイクの発症機序等その病態解明をすすめるとともに、次世代シーケンサーの導入などによる体細胞モザイク診断技術の向上がのぞまれる。

(論文審査の結果の要旨)

CINCA症候群は*NLRP3*の機能異常により発症するが、約半数の患者で*NLRP3*遺伝子異常が同定されずその遺伝学的背景は不明であった。本邦ヘテロ変異陰性CINCA症候群の数例の検討から*NLRP3*体細胞モザイクがその遺伝要因として推定された。本研究では本邦の検討を発展して国際研究をケースコントロールの方式でおこなうことで*NLRP3*体細胞モザイクの遺伝要因としての位置づけを確立した。本研究の結果、*NLRP3*体細胞モザイクとCINCA症候群発症は強い相関関係を有しており、同モザイク変異は*NLRP3*ヘテロ変異陰性CINCA患者のうち 7 割、CINCA 症候群患者全体では 3 割と高頻度を占め、重要な遺伝要因であることが明らかとなった。今回検討した各細胞種でのモザイク頻度は平均 1 割前後と低頻度であり、今後その疾患発症機序についての検討を要する。また*NLRP3*体細胞モザイク症例の臨床症状検討では、神経症状の軽症化傾向がみとめられた。次世代シーケンサーの導入により体細胞モザイク症例の診断はより容易となることが予想され、今後さらなる診断技術の向上による症例集積、臨床像の把握が望まれる。

以上の研究はCINCA症候群の重要な遺伝要因としての*NLRP3*体細胞モザイクの概念確立に寄与した。本結果はCINCA症候群の遺伝学的背景の解明に貢献するとともに、CINCA症候群患者の診断治療の促進に貢献した。

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 23 年 10 月 31 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。