

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 高 IgE 症候群の病因・病態解明と新規治療法開発
2. 研究開発代表者： 峯岸克行 徳島大学疾患プロテオゲノム研究センター
3. 研究開発の成果

高 IgE 症候群は、重症のアトピー性皮膚炎、著しい高 IgE 血症、皮膚膿瘍と肺炎等の黄色ブドウ球菌感染症、病的骨折、骨粗鬆症を発症する難治性疾患である。生後早期から肺嚢胞等の肺の器質的病変が進行し、そのアスペルギルス感染症により、20歳代で肺出血や菌球の脳転移により死亡する症例が多い。その主要な病因が STAT3 遺伝子のドミナントネガティブ変異であることを我々が世界に先駆けて明らかにしたが、STAT3 に変異を有さない遺伝性高 IgE 症候群が多数存在し、病因の明らかな高 IgE 症候群においてもその病態形成機構は不明で、対症療法以外の治療法は存在しない。そこで本研究では、次世代シーケンサーによるエクソーム解析を活用し、本症の未知の原因遺伝子を明らかにする。新規の疾患原因遺伝子の発見は、当該疾患に罹患する症例の早期確定診断、早期治療開始により予後改善に貢献するとともに、難治性疾患の発症プロセスをを解明することから新規治療ターゲットの発見を目指す。

H27 年度までに、合計で 102 例の高 IgE 症候群の全エクソン塩基配列を決定し、計 128 万個の non-synonymous 変異を同定した。このデータを利用して bioinformatics と in vitro 変異体機能解析により新規原因遺伝子を発見した。この遺伝子の CRISPR ノックアウトマウスを作成したところ、ヒトと同様の臨床症状を呈することが明らかとなった。また、新たな症例を 50 例リクルートし当該遺伝子の DNA 塩基配列を検討し、当該遺伝子に変異を有する 1 例の新規症例を見出した。以上より、この遺伝子が高 IgE 症候群の新規原因遺伝子であることは確定的である。

前述のように、高 IgE 症候群の新規の原因遺伝子を見出し、そのモデルマウスを CRISPR/Cas9 ゲノム編集により樹立した。STAT3 変異体マウスと合わせて、2 系統のこのマウスにおいて高 IgE 症候群の病態発症機構を検討していく。

ヒトの高 IgE 症候群症例を検討して、新たに同定した Th17 細胞の亜集団 CCR6+CXCR3-CD45RO+CD4+CD3+T 細胞の検討を行った。STAT3 遺伝子に変異を認める高 IgE 症候群の児では、この細胞集団がほとんど存在しないことを明らかにした。遺伝子解析を行う前の有力なスクリーニング手段になると考えられた。また、次世代シーケンサーを用いた TCR および BCR レパトア解析を行い、成人例で BCR レパトアは明らかに減少していたが、TCR レパトアではほぼ正常レベルであることを明らかにした。このレパトア異常と T 細胞・B 細胞分化の関連を検討していく。

高 IgE 症候群の根治療法開発を目的として、造血幹細胞を対象とした遺伝子修復型遺伝子治療法の検討を行った。ターゲット遺伝子領域で特異的な DNA の 2 本鎖切断を起こす人工ヌクレアーゼである CRISPR/Cas9 発現プラスミドを作製し、ヒト血球系細胞株である K562 細胞において、アデノ・アデノ随伴ウイルスハイブリッドベクターと CRISPR-Cas9 システムを併用した遺伝子修復を試みた。この併用により、ウイルスベクター単独と比較して、100 倍以上の頻度で遺伝子修復を確認した。正常ヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞を用いた検討においても、ウイルスベクター単独に比べて、2 桁高い頻度の遺伝子修復の成功がみられ、CRISPR/Cas9 とアデノ・アデノ随伴ウイルスハイブリッドベクターの組み合わせが変異修復型の遺伝子治療に有力であることが明らかになった。