

【本件リリース先】

文部科学記者会、科学記者会、  
厚生労働記者会、広島大学関係報道機関

NEWS RELEASE



広島大学



広島大学広報室  
〒739-8511 東広島市鏡山 1-3-2  
TEL : 082-424-4383 FAX : 082-424-6040  
E-mail: koho@office.hiroshima-u.ac.jp

令和5年3月31日

## 先天性免疫異常症の新たな遺伝子診断法により診断効率を向上 ～プロテオミクスとターゲット RNA シーケンスの統合解析の重要性～

### 論文掲載

#### 【本研究成果のポイント】

- プロテオミクスとターゲット RNA シーケンスの統合解析(マルチオミックス解析)を用いて、遺伝子パネル検査や全エクソーム解析など、従来の遺伝子検査で診断不可能だった先天性免疫異常症 (IEI) 患者の遺伝子診断効率を向上させました。
- マルチオミックス解析で、原因遺伝子の発現量低下に基づき遺伝子診断が可能であることを証明しました。さらに、一部の患者では原因遺伝子の mRNA 発現量が正常にも関わらずタンパク発現量が低下している事も明らかにしました。
- IEI の病態形成に関わる B 細胞や T 細胞に特徴的に発現している遺伝子群を詳細に解析することにより、免疫細胞の機能障害を持つ患者を同定できる事も明らかにしました。
- 本研究は、従来の遺伝子解析で診断できなかった IEI 患者に対する新たな遺伝子診断法として今後の臨床応用が期待されます。

#### 【概要】

先天性免疫異常症 (IEI) は、遺伝子の病的変異により易感染性、炎症性疾患、自己免疫疾患、アレルギー、悪性疾患など様々な症状を呈する疾患です。次世代シーケンス技術 (\*1) の躍進により、これまでに 480 を超える遺伝子が IEI の疾患原因遺伝子として同定されています。IEI の遺伝子診断は、根治療法の選択や合併症を予測する上で非常に重要であり、IEI 患者の QOL (\*2) に大きく関わります。しかし、遺伝子パネル検査 (\*3) や全エクソーム解析 (\*4) などの標準的遺伝子検査の診断効率は 30~40% であり、遺伝子診断効率の向上は現在の課題です。

岡田賢 (広島大学大学院医系科学研究科小児科学 教授)、佐倉文祥 (同大学院生) らの研究グループ、金兼弘和 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科発生発達病態学分野 寄附講座教授) らの研究グループ、八角高裕 (京都大学大学院医学研究科小児科学 准教授) らの研究グループ、大西秀典 (岐阜大学大学院医学研究科小児科学 教授) らの研究グループ、野々山恵章 (防衛医科大学校小児科学 名誉教授)、今井耕輔 (防衛医科大学校小児科学 教授) らの研究グループ、小原収 (かずさ DNA 研究所 副所長) らの研究グループは、プロテオミクス (\*5) とターゲット RNA シーケンス (\*6) のマルチオミックス解析 (\*7) を用いて、IEI 患者における遺伝子診断効率を向上させることに成功しました。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 難治性疾患実用化研究事業のサポートを受けて実施いたしました。

本研究成果は、2023 年 3 月 28 日 (火) に「PNAS Nexus」で公開されました。

〈発表論文〉

論文タイトル A complementary approach for genetic diagnosis of inborn errors of immunity using proteogenomic analysis



著者 佐倉文祥, 野間康輔, 浅野孝基, 谷田けい, 豊福悦史, 加藤健太郎, 津村弥来, 仁平寛士, 井澤和司, 関中佳奈子, 紺野亮, 川島祐介, 溝口洋子, 唐川修平, 早川誠一, 川口浩史, 今井耕輔, 野々山恵章, 八角高裕, 大西秀典, 金兼弘和, 小原收\*, 岡田賢\*

\*Corresponding Author(責任著者)

掲載雑誌 PNAS Nexus

DOI番号 <https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgad104>

## 【背景】

先天性免疫異常症 (IEI) は、遺伝子の病的変異により免疫不全症、炎症性疾患、自己免疫疾患、アレルギー、悪性疾患など様々な症状を呈する疾患です。次世代シーケンシング技術の躍進により、これまでに 480 を超える遺伝子が IEI の原因遺伝子として同定されています。IEI の遺伝子診断は、疾患の予後予測や根本的治療法提供のために必要で、IEI 患者の QOL に大きく関わります。しかし、遺伝子パネル検査や全エクソーム解析など現在広く行われている遺伝子検査の診断効率は 30~40% であり、遺伝子診断効率の向上は現在の課題です。

遺伝子はヒトの体を作る設計図に相当するもので、DNA (いわゆる遺伝子) が mRNA へ転写され、mRNA がタンパクへ翻訳されることで初めて生体内での機能を獲得します (概要図参照)。多くの疾患はタンパクの機能異常によって発症するため、遺伝子の異常を調べる遺伝子検査だけでは発症原因が見逃されてしまう症例が存在します。このことが、遺伝子検査の診断効率が低くなる主な原因です。近年、mRNA を解析する RNA シーケンス (RNA-seq) や、タンパクを解析するプロテオミクスが様々な研究分野で注目されています。これらの研究は、設計図である DNA の異常が mRNA やタンパクに及ぼす影響を直接調べることが可能で、遺伝子検査だけでは得られない疾患に関する情報を知ることができます。IEI の分野でも、疾患の病態理解や遺伝子診断における RNA-seq の有用性が知られています。しかし、プロテオミクスはさらに新しい分野であり、IEI の遺伝子診断にプロテオミクスを用いた研究はほとんどありません。RNA-seq とプロテオミクスを同時に行った (マルチオミックス解析) 研究に関してはさらに少ないのが現状です。本研究は、プロテオミクスとターゲット RNA-seq の統合解析を用いて、従来の遺伝子検査で診断できなかった IEI 患者の診断効率を向上させることを目的として取り組みました。

## 【研究成果の内容】

遺伝子パネル検査や全エクソーム解析で遺伝子診断できなかった 70 名の IEI 患者を対象にマルチオミックス解析を行いました。その結果 4 名の患者で新たに原因遺伝子を同定することに成功しました。これらの患者では原因遺伝子由来のタンパク発現が著明に低下していましたが、その内 2 名では mRNA の発現は正常で、mRNA とタンパクの発現量に不一致が存在することを明らかになりました (図 1)。さらに、プロテオミクスとターゲット RNA-seq のデータを詳細に調べると、IEI に関連する遺伝子の約半数で mRNA とタンパクの発現量に不一致を認めました (図 2)。このことは、タンパクと mRNA を同時に調べるマルチオミックス解析の重要性を示しています。

さらに我々は、B 細胞や T 細胞などの免疫細胞に特異的に発現している遺伝子において、タンパクと mRNA の発現量に高い相関性があることに着目し、タンパク発現量解析で免疫細胞の障害を持つ患者を同定できるのではないかと考えました。それを証明するために、B 細胞や T 細胞に特異的な遺伝子群の発現量に基づいてクラスタリング解析 (\*8) を行いました。その結果、B 細胞や T 細胞に異常を来す疾患で、それぞれの細胞に特異的な遺伝子群の発現量が低下していることを見いだしました (図 3)。このことから、IEI の病態の中心である免疫細胞の障害もマルチオミックス解析で診断できると判断しました。

一連の結果から、マルチオミックス解析は従来の遺伝子検査で診断できなかった IEI 患者における遺伝子診断効率の向上及び、IEI の病態解明に貢献できることが示されま

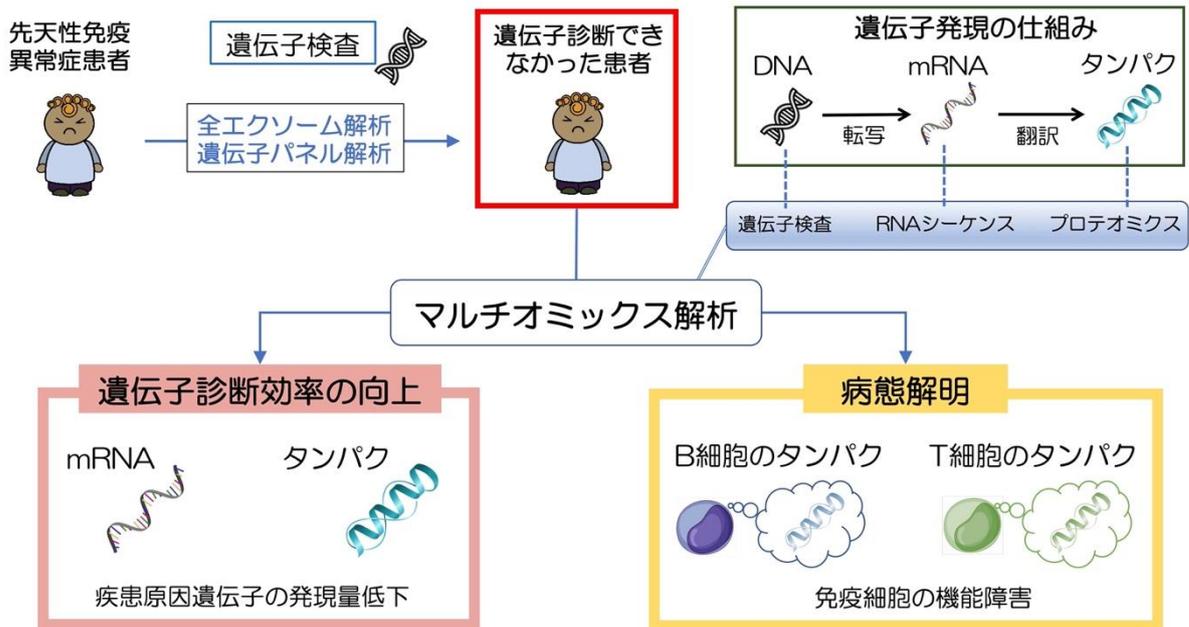
した。

### 【今後の展開】

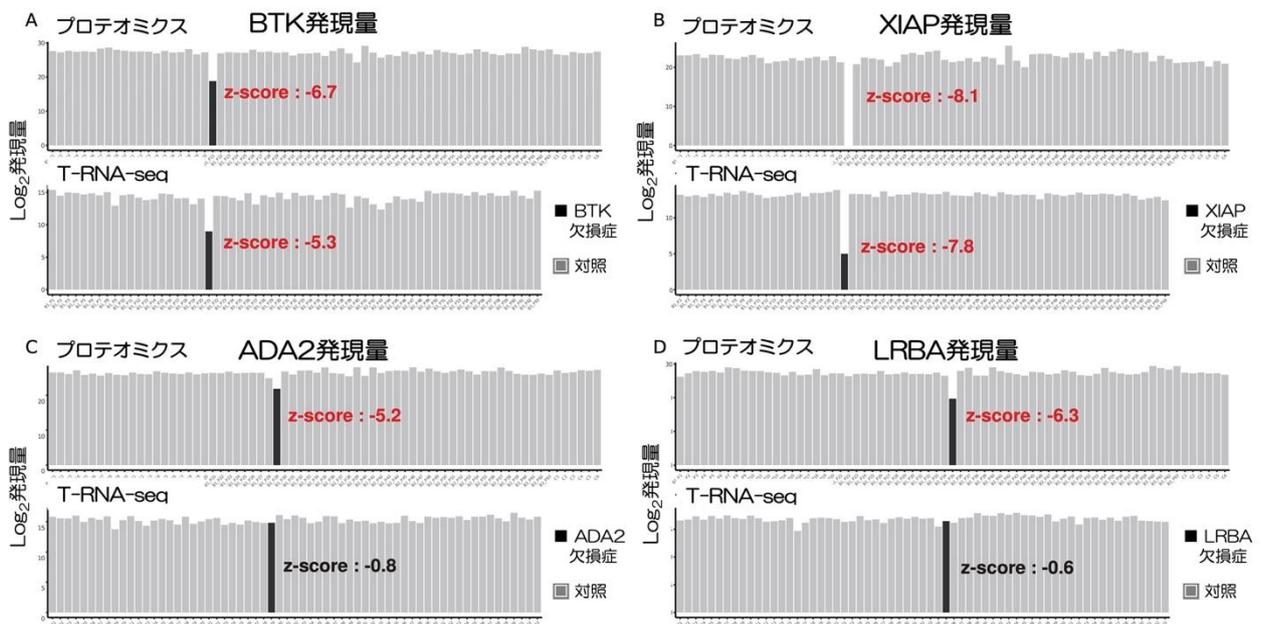
本研究で、マルチオミックス解析は IEI 患者の診断と病態解析に有用であることが示されました。IEI 患者の遺伝子診断は適切な治療法を選択するために必要不可欠で、遺伝子診断率の向上は患者の QOL 向上に大きく貢献します。IEI 患者に対するマルチオミックス解析は新しい研究分野ではありますが、将来的には遺伝子検査を補完する新しい技術として臨床応用されることが期待されます。

### 【参考資料】

#### 【本研究の概要図】



<図1> プロテオミクスとターゲット RNA-seq による疾患原因遺伝子の探索

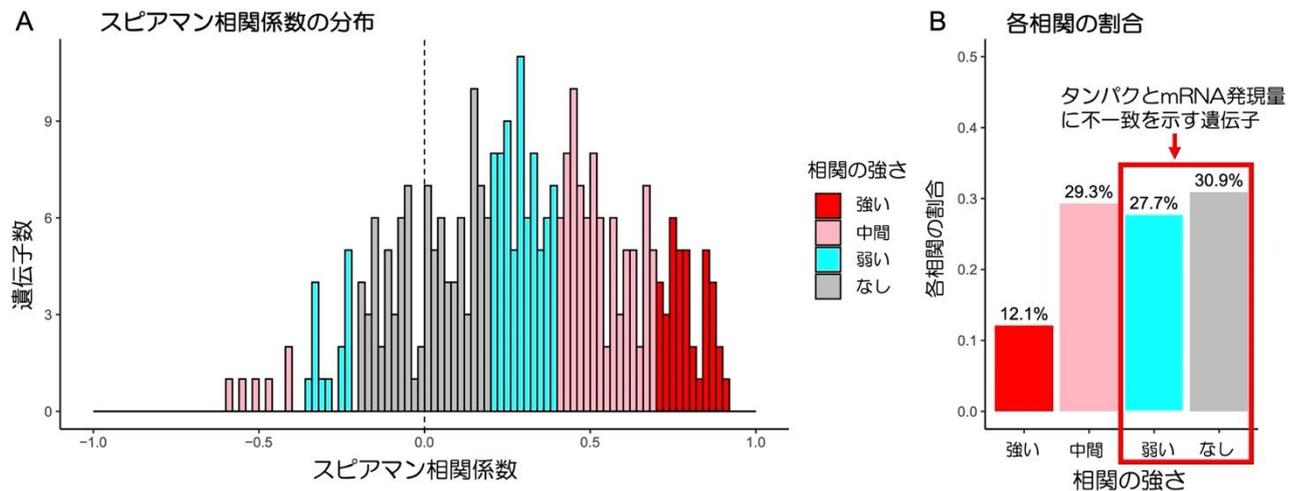


グラフは患者毎の疾患原因遺伝子の発現量 (Log2 変換) を示しています。上側のグラフがプロテオミクス (タンパク)、下側のグラフがターゲット RNA-seq (T-RNA-

seq) (mRNA) の結果です。黒い棒グラフがその患者の発現量を示し、発現量変化の指標を Z スコア (\*9) で表しています。発現量変化が大きい場合は赤字で示しています。(A) BTK 欠損症、(B) XIAP 欠損症、(C) ADA2 欠損症、(D) LRBA 欠損症。

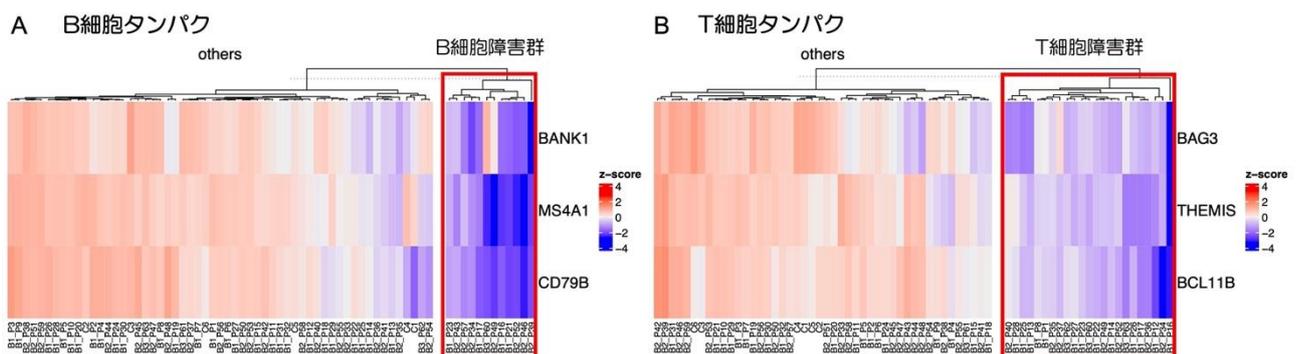
ADA2 欠損症と LRBA 欠損症ではタンパクと mRNA の発現量に不一致が認められました。

<図2> IEI 関連遺伝子のタンパク-mRNA 相関解析



IEI 関連遺伝子におけるタンパクと mRNA 発現量の相関係数を解析しました。(A) スピアマン相関係数 (\*10) の分布を示したグラフです。多くの遺伝子が相関係数 > 0 で、正の相関を示します。(B) 相関係数に従って相関の強さを分類すると、半数以上 (58.6%) の遺伝子が「弱い相関」あるいは「相関なし」でタンパクと mRNA の発現量に不一致を示します。

<図3> クラスタリング解析による免疫細胞機能障害の探索



図はクラスタリング解析とヒートマップ (\*11) を組み合わせたものです。B 細胞や T 細胞に特徴的なタンパクの発現パターンで、発現量が少ないもの (青)、発現量が多いもの (赤) を分類すると全体的に発現量が少ない群 (免疫細胞が障害された群) が分離されます (赤枠)。(A) B 細胞障害群、(B) T 細胞障害群。

### 【用語解説】

\*1: 次世代シーケンス: DNA や RNA の塩基配列 (A, T (RNA は U), C, G) を決定 (シーケンス) する技術の一つで、従来のサンガー法よりも高速かつ大量のデータを取得することができます。一度に数百万もの DNA 分子の配列情報を取得することが可能で、多くの遺伝子変異を発見できることから様々な研究分野で活用されてい

ます。遺伝子パネル検査や全エクソーム解析も次世代シーケンスを利用した解析方法です。また、RNA シーケンスもこの技術を応用した解析方法で、配列情報に加えて発現量の情報を得る事もできます。

\* 2 : QOL : Quality of Life の略称で、生活の質や生命の質を表す言葉です。一般的には患者の状態を測るための指標として用いられることが多く、身体的、精神的、社会的活動を含めた総合的な活力、満足度などが判断基準となります。

\* 3 : 遺伝子パネル検査 : 次世代シーケンスを用いた遺伝子解析手法の一つです。目的に応じたいくつかの遺伝子(遺伝子パネル)の配列情報を網羅的に調べる方法で、医療分野で応用されています。本研究における遺伝子パネル検査は先天性免疫異常症(IEI)の原因になることが分かっている遺伝子を網羅的に調べる方法です。

\* 4 : 全エクソーム解析 : DNA (いわゆる遺伝子) は、ヒトの体内で様々な機能を担うタンパクの設計図となります。DNA が mRNA に転写され、mRNA がタンパクに翻訳されることで機能を発揮します。DNA が mRNA に転写される過程で DNA の一部分が除去され、残った部分がエクソンと呼ばれ、エクソンがつなぎ合わされて mRNA が完成します。このエクソン領域の配列情報を次世代シーケンスで調べる方法を全エクソーム解析と言います。遺伝子変異の中でも、タンパク翻訳に影響を与える mRNA の配列情報を効率よく検出できることから、先天性免疫異常症を含む難病領域の医療に広く用いられています。

\* 5 : プロテオミクス : プロテオーム解析とも呼ばれ、マスマスペクトロメトリーという測定技術を利用して非常に多くのタンパクを網羅的に測定する方法です。遺伝子は転写、翻訳されてタンパクになることで初めて機能を獲得します。遺伝子パネル検査や全エクソーム解析は DNA の配列情報の変化がタンパク機能へ影響するという予測しかできませんが、プロテオミクスは生体内で機能するタンパクがどのくらい存在しているのかを明らかにすることができます。それによって病気の発症に関わるタンパクの異常を見つけることができるため、近年様々な分野で注目されています。

\* 6 : ターゲット RNA シーケンス : RNA シーケンスは次世代シーケンスを用いて mRNA の配列情報と発現量を網羅的に調べる方法です。また、mRNA は DNA が転写されて生じる配列のため、転写物の構造変化も調べることができます。ターゲット RNA シーケンスは遺伝子パネルと同様に、目的の(ターゲット)遺伝子群をシーケンスすることでより正確な情報を得ることができます。本研究は IEI の責任遺伝子群と、免疫細胞に特徴的な遺伝子群(総計 530 遺伝子)をターゲットとしています。

\* 7 : マルチオミクス解析 : 人体の遺伝子からなる物質を、一つひとつではなく全て一括して調べる方法です。DNA (ゲノミクス)、RNA (トランスクリプトミクス)、タンパク (プロテオミクス) など、これらを包括的に解析することで一つの解析では得られないような重要な情報が得られるため多くの生命科学研究分野で注目されています。

\* 8 : クラスタリング解析 : 大量のデータの中から似た特徴を持つデータをグループ化することで、データの構造や関係性を明らかにすることができます。例えば、様々な患者の遺伝子発現量のデータから、同じ発現パターンを示す患者群を見つけることができます。その患者群の特徴や遺伝子発現パターンを調べることによって、疾患について新たな情報を得ることができます。

\*9: Zスコア: 統計分析で用いられる手法で、その値が平均値からどの程度ずれているかを示す値です。絶対値が大きいほど平均値から大きくずれていることを示します。

\*10: スピアマン相関係数: 二つの変数間の相関の強さを測る指標です。相関係数は-1~1の間の値をとり、0以上の時を正の相関(一方が増えるともう一方も増える)、0以下の時を負の相関(一方が増えるともう一方が減る)と言います。また、明確な基準はありませんが、絶対値の大きさにより相関の強さを表すことができ、1に近いほど相関が強く、0に近いほど相関が弱くなります。

\*11: ヒートマップ: 数値データの大小を見易くするために色の濃淡で表した図です。本研究では、タンパク発現量の数値を色と濃淡でスケールリングしています。クラスタリング解析と組み合わせることで、発現パターン(色の濃淡)が似ているグループ分類を視覚的に捉え易くなるため、遺伝子発現量解析ではよく用いられる手法です。

#### 【お問い合わせ先】

##### <研究に関すること>

広島大学 大学院医系科学研究科 小児科学 教授 岡田 賢  
Tel: 082-257-5212 FAX: 082-257-5214  
E-mail: [sokada@hiroshima-u.ac.jp](mailto:sokada@hiroshima-u.ac.jp)

##### <報道(広報)に関すること>

広島大学 広報室  
〒739-8511 東広島市鏡山1-3-2  
TEL: 082-424-4383 FAX: 082-424-6040  
E-mail: [koho@office.hiroshima-u.ac.jp](mailto:koho@office.hiroshima-u.ac.jp)

##### <AMED事業に関すること>

日本医療研究開発機構(AMED)  
ゲノム・データ基盤事業部医療技術研究開発課  
難治性疾患実用化研究事業  
E-mail: [nambyo-r@amed.go.jp](mailto:nambyo-r@amed.go.jp)

発信枚数: A4版 6枚(本票含む)

