

# 論文内容要旨

Heterozygosity for the Y701C *STAT1* mutation in  
a multiplex kindred with multifocal osteomyelitis

(多発性骨髄炎母子例で同定した *STAT1* 新規ヘテロ  
接合性遺伝子変異 Y701C とその機能解析)

Haematologica The Hematology Journal, 2013, in press.

主指導教員：小林 正夫 教授

(統合健康科学部門 小児科学)

副指導教員：瀧原 義宏教授

(原爆放射線医科学研究所 幹細胞機能学)

副指導教員：中村 和洋 准教授

(統合健康科学部門 小児科学)

平田 修

(医歯薬学総合研究科 展開医科学専攻)

## 論文内容要旨

多発性骨髄炎母子例で同定した STAT1 新規ヘテロ接合性遺伝子変異 Y701C とその機能解析

STAT1 はインターフェロン (IFN) を代表とするサイトカインのシグナル伝達を担う重要な細胞内分子である。ヒトにおいて *STAT1* 遺伝子の異常は、以下の 3 つの疾患への関与が明らかとなっている。I) 部分型機能喪失型変異：細胞内寄生菌に対して選択的に易感染性を示す MSMD (Mendelian Susceptibility to Mycobacterial Disease)、II) 完全欠損型変異：細胞内寄生菌だけでなく、ウイルスによる重症感染症を合併、III) 機能獲得型変異：皮膚、爪、粘膜のカンジダ感染に対する高感受性を認める CMCD (Chronic Mucocutaneous Candidiasis)。本研究では、多発性骨髄炎を認める母子例に *STAT1* 新規ヘテロ接合性遺伝子変異 (2012 A>G : Y701C) を同定した。本遺伝子変異は、シグナル伝達に重要な役割を果たすチロシンリン酸化部位 Y701 に生じたアミノ酸置換であった。同じ STAT1 の tail-segment (TS) ドメインに存在し、リン酸化障害を引き起こす L706S 変異を代表とした既報の変異群との比較、ならびに末梢血 CD14 陽性細胞における IFN 誘導遺伝子群 (Interferon Stimulated Gene : ISGs) の発現を解析し、MSMD 発症への関与を検討した。

発端症例は BCG 接種歴のある 3 歳男児。背部痛や歩行異常を主訴とし、血液検査で CRP、IgG の上昇などの慢性炎症所見、各種画像検査で顔面骨、椎骨、脛骨などに多発性の骨病変を認めた。病変部の生検で BCG、マイコバクテリウムなどは検出されなかったが、病理学的には肉芽腫性の病変を認めた。臨床的に MSMD と判断し *STAT1* をはじめとする責任遺伝子の検索を行い、*STAT1* 新規ヘテロ接合性遺伝子変異 (Y701C) を同定した。また、家族の遺伝子解析で、18 歳時に原因不明の多発性骨髄炎を指摘されていた 38 歳の母親にも同一変異を確認した。これらの結果から、常染色体優性遺伝を呈する STAT1 部分型欠損症 (AD-STAT1 異常症) と診断した。

STAT1 は、IFN- $\gamma$  の刺激により 701 番目のチロシン残基のリン酸化を受けた後、ホモ二量体を形成し核内に移行する。核内では DNA の GAS (Interferon-gamma Activating Sequence) 配列に結合して転写活性を示し、マイコバクテリウムに対する感染防御に働く。一方、IFN- $\alpha$  刺激では STAT2、IRF9 とヘテロ三量体を形成し、ISRE (Interferon Stimulated Response Element) 配列に結合し抗ウイルス活性を示す。患者由来の EB ウイルス不死化 B (EBV-B) 細胞を用いた検討で、IFN- $\alpha$  刺激による ISRE 結合能は正常であったが、IFN- $\gamma$  刺激による GAS 結合能は低下しており、細胞内寄生菌に対する選択的な易感染性が示唆された。さらに、STAT1 シグナル伝達経路の異常を証明するために、STAT1 野生型 (WT)、AD-STAT1 異常症患者で既報の変異である Q463H、K673R、L706S および、今回の症例で認めた Y701C を有する各種コンストラクトを作成し、一過性遺伝子強制発現実験により各々の変異体の性質を比較検討した。IFN- $\gamma$  刺激に対して、Q463H は DNA 結合の障害、K673R はリン酸化の部分的な障害を示し、Y701C は L706S 同様にリン酸化の著明な障害により核

移行能、GAS 結合能、GAS 転写活性が障害されていることを確認した。さらに、WT との共発現下に GAS 転写活性を検討し、変異 STAT1 量に依存する優性阻害効果も確認した。Y701C の性質は TS ドメインに変異をもつ既報の L706S と類似していたが、両者はチロシン脱リン酸化阻害薬である pervanadate 処理下において異なる性質を示した。Y701C は pervanadate 処理下でも STAT1 のリン酸化を確認できず、完全なリン酸化障害が示唆されたのに対して、L706S は細胞質内の STAT1 リン酸化が確認された。しかしながら pervanadate 処理下においても L706S は、核内移行、GAS 配列への結合が障害されていた。これらの結果から、Y701C 変異は IFN- $\gamma$  刺激に対する完全なリン酸化障害を、L706S 変異は重度のリン酸化障害と核内移行障害を呈することが明らかとなった。

次に、患者由来の EBV-B 細胞、末梢血 CD14 陽性細胞を用いて IFN により誘導される ISGs の発現を確認した。その結果、IFN- $\gamma$  刺激で誘導される CXCL9 の発現が、EBV-B 細胞、末梢血 CD14 陽性細胞とともに著明に障害されていた。

本症例を含めた既報の症例の検討から、AD-STAT1 異常症では多発性骨髄炎が特徴的な臨床所見であった。さらに、同じ MSMD を発症する遺伝子異常の中でも、IFN- $\gamma$  の作用障害を分子基盤とする AD-IFNGR1 異常症で多発性骨髄炎が好発すること、一方で IFN- $\gamma$  の産生障害を背景とする AR-IL12RB1 異常症では多発性骨髄炎の頻度は低いことから、多発性骨髄炎が IFN- $\gamma$  の作用障害に基づいていることを示した。

以上の結果から、本研究で同定した STAT1 遺伝子 Y701C は完全にリン酸化が障害される変異であり、これまでに報告された AD-MSMD-STAT1 異常症と同様に、IFN- $\gamma$  誘導性 STAT1 シグナル伝達が優性的に阻害され、GAS 転写活性の低下によりマイコバクテリウムに対する易感染性を示すことが示唆された。また今回の報告は、原因不明の多発性骨髄炎の症例に対して、STAT1 を含む MSMD 関連遺伝子の検索も考慮されるべきことを明らかとした。