

論文内容要旨

IRAK4 deficiency presenting with anti-NMDAR
encephalitis and HHV6 reactivation

(抗 NMDAR 脳炎と HHV6 再活性化を呈した
IRAK4 欠損症)

Journal of Clinical Immunology, in press.

主指導教員：岡田 賢 教授

(医系科学研究科 小児科学)

副指導教員：工藤 美樹 教授

(医系科学研究科 産科婦人科学)

副指導教員：川口 浩史 准教授

(医系科学研究科 小児科学)

西村 志帆

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

論文内容要旨

抗 NMDAR 脳炎と HHV6 再活性化を呈した IRAK4 欠損症

IRAK4 (Interleukin-1 receptor associated kinase) 欠損症は TLR (Toll like receptor), IL-1R, IL-18R のシグナル伝達分子である *IRAK4* 遺伝子の異常によって生じる疾患で、自然免疫応答の障害によって侵襲性細菌感染症を引き起こす。これまで IRAK4 欠損症の診断は、患者細胞または線維芽細胞を用いての細胞アッセイで行っており、*IRAK4* 変異を適切に評価する簡潔な解析方法はなかった。Anti n-methyl-Daspartate receptor (抗 NMDAR) 脳炎は NMDA 受容体に対する抗体を有する自己免疫介在性脳炎で、卵巣奇形腫を合併する女性で多く報告され、乳児期の発症は稀である。感冒様の前駆症状が先行することが多く、続いて精神症状、不随意運動、痙攣、自律神経調節障害、中枢性低喚起を呈する。本研究では、HHV6 再活性化がみられた抗 NMDAR 脳炎発症を契機に、新規の *IRAK4* 遺伝子複合ヘテロ接合性変異がみつかった乳児例において両変異の機能解析を行った。そして *IRAK4* 遺伝子変異を適切に評価する新規の評価系を確立した。

症例は 10 か月の男児、新生児期に臍帯脱落遅延を認めた。既往歴として、突発性発疹、上気道感染、急性中耳炎を認めた。前医にて発熱あり (Day 0 と定義)、その後全身性の強直性痙攣あり 1 週間ほど人工呼吸管理をされた。Day 8 に抜管し状態改善傾向であったが、Day 18 に再び発熱あり、活気低下、意識障害のため Day 30 に当院へ搬送された。頭部 MRI では T2WI 画像で両側視床内側に高信号あり、髄液検査にて抗 NMDAR 抗体が同定されたため抗 NMDAR 脳炎と診断した。入院時の咽頭、血液、便より HHV-6 が検出された。

乳児期発症の抗 NMDAR 脳炎は非常に稀であり、何らかの遺伝的背景に基づき発症した可能性を考慮して全エクソーム解析を試行した。その結果、*IRAK4* のヘテロ接合性新規遺伝子変異 (Y10Cfs*9, R12P) が同定された。同変異はサンガー法でも確認され、Y10Cfs*9 は父由来、R12P は母由来であった。患者の末梢血での *IRAK4* mRNA の発現は健常人の 3 分の 2 程度であった。患者由来の末梢血 CD14⁺細胞は、LPS 刺激に対する TNF- α 産生障害を示した。患者末梢血の *IRAK4* タンパク発現は、CD3⁺/CD4⁺ ヘルパー T 細胞、CD3⁺/CD8⁺ 細胞傷害性 T 細胞、CD19⁺ B 細胞、CD14⁺単球の全てにおいて低下していた。患者由来の線維芽細胞を TLR 各種リガンド、TNF- α , IL-1 β で刺激し、IL-6 産生能を指標にして反応性を検討した。患者由来の線維芽細胞は TLR3, TNF- α 刺激に対して正常に IL-6 を産生したが、他の TLR リガンド (TLR1, TLR2, TLR4, TLR6), IL-1 β 刺激に対する IL-6 産生能は著しく障害されていた。この結果から、患者細胞における *IRAK4* を経由した IL-6 産生能の特異的障害が示された。HEK293T 細胞を用いた一過性強制発現実験で、Y10Cfs*9, R12P *IRAK4* 変異体はタンパク発現が著明に低下していた。この結果は、患者末梢血で得られた結果と一致していた。*IRAK4* は、TLR3 を除く各種 TLR, IL-1 β , IL-1 α などのシグナル伝達を介在し、NF- κ B を活性化する。そこで *IRAK4* 変異の NF- κ B 転写活性化能を評価するため、NF- κ B レポーターアッセイを行った。HEK293 細胞持つ内在性の

IRAK4 の影響を排除するため、CRISPR/Cas9 を用いて IRAK4 を欠損した HEK293T 細胞を作製した。作製した IRAK4 欠損 HEK293T 細胞に、野生型 (WT) ないしは変異型 *IRAK4* を強制発現させ、IL-18 刺激に伴う NF- κ B 転写活性化をレポーターアッセイで検討した。その結果、患者で同定された IRAK4 変異 (Y10Cfs*9, R12P) は、既知の病原性変異 (Q293*, R12C) と同様に、著しい NF- κ B 転写活性化障害を示した。一方で、正常多型として知られる R20W は、WT と同等の NF- κ B 転写活性化能を示した。よって新規変異である Y10Cfs*9, R12P は、病的変異であると判断した。これまで、*IRAK4* 変異が NF- κ B 転写活性化に及ぼす影響を正確に測定する評価系は存在せず、本検査法は *IRAK4* 変異の質的評価が必要になった場合の有用な評価系と考えた。

本研究で、抗 NMDAR 脳炎の乳児例において IRAK4 欠損症を同定し、早期発症の抗 NMDAR 脳炎の一部が先天的な免疫異常に基づき発症している可能性を見出した。獲得免疫の異常で発症すると考えられていた抗 NMDAR 脳炎の一部が、自然免疫の異常に基づき発症する可能性を示唆する貴重な症例と考えた。