

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	西村 志帆
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主査	教授	田代 聡	印
審査委員	教授	丸山 博文	
審査委員	講師	古宇 家正	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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 <i>IRAK4</i> 遺伝子の異常による疾患で, 自然免疫応答の障害に基づき侵襲性細菌感染症を発症する。IRAK4 欠損症の診断は, 患者細胞または線維芽細胞を用いた細胞アッセイで行われるが, <i>IRAK4</i> 変異を適切に評価する簡潔な解析方法は存在しない。Anti n-methyl-D aspartate 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, HHV6 再活性化がみられた抗 NMDAR 脳炎発症の乳児例に対して全エクソーム解析を行い, <i>IRAK4</i> 遺伝子の新規複合ヘテロ変異を同定した。さらに, <i>IRAK4</i> 遺伝子変異を正確に評価するための実験系を確立し, 両変異の病的意義を検証した。</p> <p>症例は 10 か月の男児。新生児期に臍帯脱落遅延を認め, 突発性発疹, 上気道感染, 急性中耳炎の既往歴を持つ。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。Day8 に抜管し状態改善傾向であったが, Day18 に再び発熱あり, 活気低下, 意識障害のため Day30 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。</p> <p>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, <i>IRAK4</i> 遺伝子の新規ヘテロ変異 (Y10Cfs*9, R12P) を同定した。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。患者末梢血での <i>IRAK4</i> mRNA の発現は, 健常人の 3 分の 2 程度であった。患者末梢血 CD14⁺単球は, LPS 刺激に対する TNF-α 産生障害を示した。患者末梢血の <i>IRAK4</i> 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⁺単球の全てで低下していた。患者由来の SV40 不死化線維芽細胞 (SV40 細胞) を TLR 各種リガンド, TNF-α, IL-1β で刺激し, 反応性に産生される IL-6 を測定した。患者由来 SV40 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-1β 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, 患者で <i>IRAK4</i> 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 <i>IRAK4</i> 変異体は著明なタンパク発現の低下を示した。この結果は, 患者末梢血で得られた結果と一致していた。<i>IRAK4</i> は, TLR3 を除く各種 TLR, IL-1β, IL-18 などのシグナル伝達を介在し, NF-κB を活性化する。<i>IRAK4</i> 遺伝子変異の質的評価のため, NF-κB レポーターアッセイを行った。まず, 内在性の <i>IRAK4</i> の影響を排除するため, CRISPR/Cas9 を用いて <i>IRAK4</i> を欠損した HEK293T 細胞を作製した。作製した <i>IRAK4</i> 欠損 HEK293T 細胞に,</p>			

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、正常多型である R20W は、WT と同等の NF- κ B 転写活性化能を示した。よって患者で認められた新規 *IRAK4* 遺伝子変異 (Y10Cfs*9, R12P) は、病的変異と判断した。

以上の結果から本論文で、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す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。*IRAK4* 欠損 HEK293T 細胞を用いた NF- κ B レポーターアッセイは、病的意義不明の *IRAK4* 遺伝子変異を評価する手法として今後の活用が期待される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するのに十分な価値あるものと認めた。