

## 論文内容要旨

A complementary approach for genetic diagnosis of inborn errors of immunity using proteogenomic analysis (先天性免疫異常症の遺伝子診断に対する補完的手法としてのプロテオゲノミクス解析)

PNAS Nexus, pgad104, 2023.

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：保田 朋波流教授

(医系科学研究科 免疫学)

副指導教員：川口 浩史准教授

(医系科学研究科 小児科学)

佐倉 文祥

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

先天性免疫異常症 (IEI: inborn errors of immunity) は、易感染性、自己免疫性疾患、自己炎症性疾患、アレルギー疾患、悪性腫瘍などを呈する先天性疾患である。IEI の多くは、単一遺伝子異常によるタンパク機能障害によって発症する。IEI における遺伝子診断は、根本的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、患者の QOL に大きく関与する。次世代シーケンス技術 (NGS: next-generation sequencing) の躍進により、これまでに 480 を超える疾患責任遺伝子が同定されているが、全エクソーム解析 (WES: whole-exome sequencing) やターゲットパネル解析を用いた網羅的ゲノム解析による診断効率は 30~40% であり決して高くない。近年、様々な分野で末梢血単核球 (PBMCs: peripheral blood mononuclear cells) を用いた網羅的発現解析 (RNA シーケンス、プロテオーム解析) が行われているが、IEI の遺伝子診断にこれらの技術を応用した研究は少ない。さらに、過去のプロテオミクス研究のタンパク同定数は 3000 程度であり、IEI の疾患多様性や複雑な病態を理解するには十分とは言えない状況であった。本研究は、PBMCs プロテオミクスとターゲット RNA シーケンス (T-RNA-seq: targeted RNA sequencing) の統合解析を用いた新たな IEI の遺伝子診断手法を提案する。IEI の病因病態解析において、既存の遺伝子解析に対する本解析手法の補完的役割を明らかにすることを目的とした。

WES やターゲットパネル検査で診断不可能だった IEI 患者 70 名を対象に PBMCs を採取し、同サンプルからプロテオミクスと T-RNA-seq を解析した。T-RNA-seq は 430 の IEI 責任遺伝子を含む 527 の IEI 関連遺伝子をカバーした。全サンプルを通して、IEI 関連遺伝子の 63% を網羅する、6498 のタンパクデータを同定した。これらのデータを統合的に解析し、4 例で疾患責任遺伝子の同定に成功した。全症例で疾患責任遺伝子のタンパク発現量が著明に低下していたが、そのうち 2 例は mRNA 発現量も同程度に低下しており、T-RNA-seq でも診断可能であった。また、1 例では mRNA 発現量は低下していなかったにもかかわらず、T-RNA-seq で異常なスプライシングを同定することにより遺伝子診断が可能であった。しかし、残りの 1 例ではタンパク発現量の低下以外に遺伝子診断に直結する所見は得られなかった。さらに、4 例中 2 例でタンパクと mRNA 発現量に不一致が認められ、mRNA とタンパクの統合解析の重要性を示唆する所見と考えた。また、B 細胞や T 細胞に特異的な遺伝子においてタンパクと mRNA 発現量が高い相関を認めたことから、クラスタリング解析により発現パターンを分類することで該当細胞の機能障害を持つ IEI 患者の同定が可能かを検証した。その結果、本解析手法は IEI の病態の基礎となる免疫細胞の機能障害も発見可能であることが判明した。特に、フローサイトメトリーで B 細胞の数的異常を証明できなかった IEI 患者において B 細胞機能障害を同定できたことから、本解析手法は IEI 病態解析においても有用と判断した。これらの結果からプロテオミクスと T-RNA-seq の統合解析は、既存の遺伝子解析では診断困難であった IEI 患者の遺伝子診断率向上に貢献するのみならず、その病態理解へと繋がる深い知見をもたらすと考えた。本研究を介してプロテオミクスと T-RNA-seq の統合解析は、IEI の病因病態解明において遺伝子解析の限界を補完する手法となり得ることが示された。