

# 論文内容要旨

Isolated Chronic Mucocutaneous Candidiasis due to a Novel Duplication Variant of *IL17RC*

(*IL17RC* 遺伝子新規重複変異による孤立性慢性皮膚粘膜カンジダ症)

Journal of Clinical Immunology, 44: 18, 2024.

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：松浦 伸也教授

(原爆放射線医科学研究所 放射線ゲノム疾患)

野間 康輔

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

慢性皮膚粘膜カンジダ感染（CMC: Chronic Mucocutaneous Candidiasis）は、*Candida albicans* などの *Candida spp.*による爪、皮膚、口腔粘膜および性器粘膜の再発性または持続性の感染を呈する“状態”を示す。カンジダに対する局所免疫には、ヘルパーT細胞の亜群である Th17細胞と、それが産生するインターロイキン 17（IL-17）が重要で、これらの免疫機構の破綻により CMC が発症する。孤立性慢性皮膚粘膜カンジダ症（Isolated CMC）は、CMC を主な臨床表現型として呈する先天性免疫異常症と定義され、IL-17 シグナル伝達に直接関与する分子群の障害により発症する。IL-17RC 異常症は 2015 年に Isolated CMC の原因として報告され、常染色体潜性遺伝を呈し責任遺伝子は *IL17RC* である。これまでに 1 報の論文から 3 症例 3 家系が報告されているのみの希少疾患であり、本邦での報告はない。IL-17RC 異常症の診断は、病的遺伝子変異の同定により行われる。既知の有害変異が認められた際の診断は容易であるが、新規変異を認めた際は、その病的意義の検証が必要になる。*IL17RC* 遺伝子変異の評価には、患者線維芽細胞を用いた細胞アッセイが用いられてきたが、より簡便な評価系が求められている。本研究では、ホモ接合性の *IL17RC* 新規変異をもつ Isolated CMC 患者の臨床的あるいは分子学的な特徴を明らかにし、また IL-17RC 変異体の質的評価を行うための新たな *in vitro* 実験系を確立することを目的とした。

症例は 7 歳の日本人女性で、生後 3 ヶ月より口腔カンジダ症、皮膚カンジダ症を発症し、以降抗真菌薬による治療にもかかわらず持続した。細菌やウイルスなど他の病原体に対する易感染性を疑わせるエピソードはなく、自己炎症性疾患を含む他の異常も認められなかったことから、患者は CMC と診断された。本患者に対し、遺伝子パネル検査を行い、ホモ接合性の *IL17RC* 新規重複変異(Chr3: 9,971,476-9,971,606 dup(+131bp)) を同定した。患者線維芽細胞から抽出した mRNA 解析の結果、同変異により *IL17RC* exon13 の 46 塩基あるいは 49 塩基が重複し、フレームシフトにより早期停止コドン (p.D457Afs\*16 or p.D457Afs\*17) が生じることが明らかとなった。患者線維芽細胞を用い、IL-17A に対する反応を定量 PCR 法で評価した。健常者では IL-17A 刺激により *CXCL1* および *IL6* の遺伝子発現が誘導されたが、患者線維芽細胞ではいずれも誘導されなかった。これらの結果は、既報の *IL17RC* ホモ接合体変異 (p.Q138X, p.Q378X) を持つ患者の線維芽細胞での結果と一致した。さらに、野生型 IL-17RC 蛋白を患者線維芽細胞に強制発現させると、IL-17A に対する反応が回復した。対照的に、mock あるいは新規重複変異体の強制発現では、反応性は回復しなかった。これらの結果から、同定された *IL17RC* 新規重複は機能喪失変異であり、患者の臨床表現型の原因であることが示唆された。

次に、IL-17RC 変異体の病的意義を検証する実験系の構築のために、CRISPR/Cas9 システムを用いて IL-17RC 欠損 HeLa 細胞を作製した。この IL-17RC 欠損 HeLa 細胞に IL-17RC 変異体を強制発現させ、*CXCL1* 定量 PCR により IL-17A に対する反応を評価した。野生型 IL-17RC 蛋白の強制発現では *CXCL1* の強い誘導が観察された、一方 mock あるいは新規重複変異体では *CXCL1* は誘導されなかった。また、健常者の中にホモ接合個体の報告があり、遺伝子多型と考えられる 16 の IL-17RC 変異体も検証したところ、すべての変異体において野生型と同等に強い *CXCL1* の誘導がみられた。対照的に、既報の IL-17RC 機能喪失変異体

(p.Q138X、p.R376X、p.Q378X) では、*CXCL1* は誘導されなかった。これらの結果は、IL-17RC 欠損 HeLa 細胞を用いた *CXCL1* 定量 PCR 評価系が、機能喪失変異と遺伝子多型を正確かつ明確に区別できることを示している。

本研究で解析を行った IL-17RC 異常症の患者の臨床的あるいは分子的表現型は、これまで報告された 3 例と一致し、本症の疾患概念を裏付けるものであった。我々は IL-17RC 欠損 HeLa 細胞を用いて、*IL17RC* 変異体の正確な *in vitro* 評価系の確立に成功した。本評価系は、病的意義が不明な *IL17RC* 遺伝子変異を評価するための簡便で有用な手法である。