

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	野間 康輔
学位授与の条件	学位規則第4条第12項該当		
論文題目			
Isolated Chronic Mucocutaneous Candidiasis due to a Novel Duplication Variant of <i>IL17RC</i> ( <i>IL17RC</i> 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)			
論文審査担当者			
主査	教授 田中 暁生	印	
審査委員	教授 大毛 宏喜		
審査委員	准教授 浅野 孝基		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>慢性皮膚粘膜カンジダ感染（CMC: Chronic Mucocutaneous Candidiasis）は、<i>Candida spp.</i>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<i>IL17RC</i>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。<i>IL17RC</i>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<i>IL17RC</i>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<i>in vitro</i>実験系を確立することを目的とした。</p> <p>症例は7歳の日本人女性で、生後3ヵ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、isolated 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<i>IL17RC</i>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<i>IL17RC</i> 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<i>CXCL1</i>および<i>IL6</i>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<i>IL17RC</i>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<i>IL17RC</i>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。</p>			

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。

以上の結果から、本論文は、新たに同定した IL-17RC 異常症の患者の臨床的あるいは分子的表现型が既報の 3 例と一致していることを示し、IL-17RC 異常症の疾患概念の確立に寄与するものであった。また、新たに確立された IL-17RC 変異体の正確な *in vitro* 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手法として、今後の臨床応用が期待される。

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