

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 大倉 有加

学位論文題名

C3 欠損症における遺伝子変異と臨床像の相関に関する研究
当科で解析した 3 例および報告例の解析

【背景と目的】 補体系は 30 種以上の血清遊離蛋白、膜蛋白からなり、自然免疫の一部として重要な役割を果たしている。補体系には古典経路、第二経路、レクチン経路の 3 つの独立した活性化経路を有する。それぞれの経路の機能は C3 を活性化することに集約され、C3 は補体活性化の中心的役割を果たしている。C3 遺伝子は 41exon からなり、exon1 から exon16 は 645 アミノ酸からなる β 鎖、exon16 から exon41 は 991 アミノ酸からなる α 鎖をコードしている。C3 は 13 のドメインから構成されている。C3 欠損症は常染色体劣性遺伝形式をとる非常にまれな疾患であり、易感染性と免疫複合体病両者の病態が認められるとされているが、症状は様ではなく、遺伝子型と表現型の関係も明らかではなかった。

今回、当科における自験例 3 家系を含めた報告例 26 家系における C3 欠損症の臨床像と遺伝子変異を解析し、その関連について検討した。

【対象と方法】

1. 当科における解析症例

当科へ遺伝子検査を依頼された C3 欠損症 2 症例に関しては遺伝子解析結果を既に報告しており、臨床像に関する後方視的解析を行った。今回新たに依頼された C3 欠損症 1 症例 (自験例 3) は下記方法で遺伝子解析を行った。

2. 遺伝子解析

北海道大学医学研究科の倫理審査委員会の規約に基づき患者およびその家族から遺伝子解析を施行する同意を得た。患者と両親、兄、正常者の末梢血単核球より genomic DNA、RNA をそれぞれ抽出し C3 遺伝子解析と Reverse transcription-PCR (RT-PCR) を行った。PCR、RT-PCR 産物は direct sequence 法で遺伝子解析を施行した。さらに患者と両親における転写産物の配列を明らかにするため、RT-PCR 産物をクローニングした後、各クローンの塩基配列を確認した。

3. 対象論文の抽出

C3 欠損症の既報告例の検索は PubMed、医学中央雑誌より 2010 年 10 月までに発行された英語または日本語の論文を抽出し、原著より遺伝子変異と臨床症状に関する情報を得た。

【結果】

1. 自験例 3 例の臨床像

自験例 1 現在 15 才の男児で両親に血縁関係がある。7 才時に初めて血尿を指摘され、C3 欠損症であることがわかった。易感染性は認められていない。

自験例 2 現在 6 才の男児で両親に血縁関係はない。乳児期より易感染性があり C3 欠損症であることがわかった。4 才時より Discoid lupus erythematosus が出現、以後口腔内潰瘍、抗核抗体が陽性、ループス腎炎の所見を認め SLE の診断で現在加療中である。

自験例 3 現在 7 才の男児で両親に血縁関係はない。2 才より易感染性を認め C3 欠損症であることがわかった。6 才より滑膜炎の所見を認め現在加療中である。

2. 当院における遺伝子解析の結果

自験例 1 では、C3 遺伝子に 3736_3737del (F1246X) のホモの変異を認め、両親は同変異の

ヘテロ接合体であることがわかった。自験例 2 は 3116dupT (L1039fs)、C3243G (Y1081X) のコンパウンドヘテロ変異を認め、前者は父由来、後者は母由来であった。今回新たに解析した自験例 3 においては、C3 遺伝子の exon12 に 1432C>T (Arg 478 Term)、IVS9 -2 a>t の塩基置換を認めた。1432C>T は母由来、IVS9 -2 a>t は父由来であることがわかった。IVS9 -2 a>t 変異の転写産物は他と比較して少なかった。さらに RT-PCR の産物の解析より、IVS9 -2 a>t 変異は exon10 の 5' 側の 4 塩基がスキップし、フレームシフトにより 14 コドン下流に早期終始コドン形成することが予測された。

3. 自験例を含む報告例の臨床像と遺伝子型のまとめ

世界中から 26 家系 (34 人) の報告がある。そのうち日本からの報告は自験例の 3 家系を含む 6 家系ある。これらの C3 欠損症の臨床像は下記のようにまとめることができる。

- ① 重症感染症：細菌性髄膜炎をはじめ様々な感染症を認めている。起病菌は *Streptococcus pneumoniae* が最も多い。
- ② SLE または SLE 様症状：3 家系 3 人で SLE (ACR の診断基準 11 項目のうち 4 項目を満たす)、1 家系 2 人で SLE 様症状、1 家系 1 人で Subacute lupus erythematosus を呈している
- ③ 腎症状：7 家系 9 人で重症度は様々であるが何らかの腎症状を認めている。5 人で病理組織学的な診断が行われている。膜性増殖性糸球体腎炎 1 型が 2 人、メサンギウム増殖性糸球体腎炎が 2 人 (このうち 1 人は IgA 腎症)、ループス腎炎 (WHO 分類 Class IIIA) が 1 人である。
- ④ 皮膚症状：SLE または SLE 様症状を認めた症例以外の 7 症例において、感染時に一時的に皮疹を伴っている。紅色の斑丘疹を認めることが多い。
- ⑤ 遺伝子型-表現型相関：C3 欠損症の症例で分子遺伝学的解析が施行されているのは自験例を含め 13 家系で、そのうち両アレルの遺伝子変異が同定できている症例は 10 家系であった。C3243G (Y1081X) は自験例 2 と SLE 様の症状を呈した日本人症例の 2 家系で認めているが、その他の変異に関しては明らかな集積は認められていない。β 鎖上および α 鎖の CUB ドメインないしそれよりも N 末端側に変異を持つ症例は全て易感染性を主症状としているのに対し、α 鎖上の TED ドメインないしそれよりも C 末端側に変異を持つ症例は SLE、SLE 様症状ないし腎炎を認めている。

【考察】 従来 C3 欠損症においては明らかな遺伝子型-表現型の相関はないとされてきたが、今回の検討で変異部位と臨床症状の相関が示唆された。

遺伝子解析されている症例はすべてナンセンス変異あるいはフレームシフト変異であり、従って変異部位より C 末端側は完全に欠失するか本来の蛋白とは全く異なることになる。TED ドメインの N 末端側に接する CUB ドメインより N 末端側に生じる変異は C3 蛋白の大きな欠失につながり、感染防御に役立たない可能性がある。一方、SLE (様) ないし腎炎を主症状とする症例は全て C3d 中の TED ドメイン以降の欠失 (3736_3737del、3116dupT、C3243G) であり、H 因子結合部位もしくは CR2 結合部位を欠くことになる。これらのドメインは C3d を介した B 細胞免疫寛容やアポトーシス体の処理能に重要であることが知られている。さらに蛋白翻訳後の不安定性や蛋白分泌の低下などにより、感染防御にはある程度役立つものの自己免疫疾患を惹起しやすいことが推測された。

【結論】 自験例も含めた C3 欠損症 26 家系における解析から、N 末端側の変異では重症感染症が、α 鎖の TED ドメインより C 末端側の変異では SLE 様症状ないし腎炎が主症状となることを見いだした。いずれもナンセンス変異あるいはフレームシフトによることから、前者では C3 蛋白の完全欠失が、後者では蛋白の不安定性、分泌異常、機能ドメインの欠失などのメカニズムが考えられた。