

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：29-7B

課題名：MIRAGE 症候群の自然歴と表現型スペクトラムの解明を目指した臨床研究

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター

(所属・職名 氏名) 分子内分泌研究部・基礎内分泌研究室長 鳴海 覚志

(研究成果の要約) 3年計画の3年目にあたる本年度は前年度から引き続いての病態解析研究、臨床像解析研究および積極的な情報発信を行った。加藤による血液疾患患者における遺伝子解析研究ではモノソミー7血液疾患における *SAMD9/SAMD9L* の関与を明確にすることができた。斎藤による患者由来 iPS 細胞を用いた病態解析研究では、自律的なインフラマソーム活性化が認められ、MIRAGE 症候群における自己炎症症候群様症状との関連が示唆された。芝田による電子顕微鏡観察研究では、同一細胞を光学顕微鏡と電子顕微鏡で比較並行観察するための CLEM 法による解析を培養細胞中で強制発現した野生型 *SAMD9* タンパク質に対して行い、核酸を多く含む顆粒状構造物との局在の一致を確認した。

以上の知見は、MIRAGE 症候群・*SAMD9* 異常症の表現型スペクトラムおよび細胞レベルの病態を明らかにするものであり、今後の臨床研究、病態解明研究への重要な知見を提供するものとなった。

1. 研究目的

本研究の目的は MIRAGE 症候群の患者登録および集学的臨床評価システムを構築し、その自然歴を解明することと MIRAGE 症候群・非典型例の検索を通じて MIRAGE 症候群の表現型スペクトラムを解明することの2点である。

2. 研究組織

研究者	所属施設
鳴海覚志	国立成育医療研究センター
加藤元博	国立成育医療研究センター
斎藤潤	京都大学 iPS 細胞研究所
芝田晋介	慶應義塾大学医学部

3. 研究成果

(1) 遺伝子診断・患者登録・生体試料バンキング (担当：鳴海)

2019年度、国内でMIRAGE 症候群を疑われた患者3例を対象に*SAMD9* 遺伝子解析を行い、1例で*SAMD9* 変異を検出、MIRAGE 症候群と確定診断した。

また、2018年度に診断していたMIRAGE 症候群患者1例の皮膚線維芽細胞からiPS 細胞を樹立し、保管した。

(2) 電子顕微鏡を用いた病態解析 (担当：芝田)

本年度は *SAMD9* タンパク質の細胞内での詳細な局在について、同一細胞を光学顕微鏡と電子顕微鏡で比較並行観察するための CLEM 法をさらに発展させた新規イメージング技術を確立するため、細胞内の微細構造解析に最適の条件を決める実験に取り組んだ。MIRAGE 症候群の病態解明のために、培養細胞中で強制発現した野生型 *SAMD9* タンパク質の局在は、特定の細胞内小器官より、RNA や DNA などの核酸を多く含む顆粒状構造物と局在が一致していることがナノメートルオーダーの解像度の局在解析により示された。

(3) 患者由来 iPS 細胞を用いた病態解析 (担当：斎藤)

本年度は、MIRAGE 症候群の患者さん1例から樹立した iPS 細胞の分化誘導実験を行った。患者由来細胞3クローンにおいて自律的なインフラマソーム活性化を示唆する所見を認めた。MIRAGE 症候群患者でみられる自己炎症症候群様の臨床像との関係が示唆された。

(4) モノソミー7血液疾患での
SAMD9/SAMD9L 遺伝子解析 (担当: 加藤)

SAMD9 変異による MIRAGE 症候群、および *SAMD9L* 変異による運動失調汎血球減少症候群では、高率にモノソミー7血液疾患が発生することが知られる。本研究では、本邦のモノソミー7血液疾患患者25名に由来するゲノムDNAを用いて *SAMD9/SAMD9L* 遺伝子解析を行った。その結果、*SAMD9/SAMD9L* に病原性が疑われるレアバリエント4種(4名)を同定し、機能解析の結果このうち3種が病原性ありと判断された。すなわち、本研究で解析対象としたモノソミー7血液疾患患者における *SAMD9/SAMD9L* 変異陽性率は12%と算出された。

4. 研究内容の倫理面への配慮

本研究はヘルシンキ宣言、およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、人を対象とする医学研究に関する倫理指針、再生医療等の安全性の確保等に関する法律に準拠して行った。

本登録システムの中で、患者の個人情報

を取り扱うのは、事務局と研究班班員のみである。また、電子化された患者リストは、スタンドアローンのコンピューターに保存する。紙媒体の情報は、カギのかかるキャビネット内に保管した。同意は全て患者本人もしくは両親から書面で取得され、同意書および患者と匿名化番号の対応表は、個人情報管理者により厳重に保管された。

(本研究に関連した倫理審査委員会承認課題の一覧)

1. 先天奇形症候群における遺伝的要因の探索 (受付番号 518)
2. 『先天奇形症候群患者登録システム』の確立と推進に関する研究 (受付番号 622)
3. 小児血液・腫瘍疾患の発症と治療経過に関する体細胞系列および生殖細胞系列の遺伝子変異の検出 (受付番号 1035)
4. 7番染色体の欠失を伴う造血器疾患における *SAMD9/SAMD9L* 遺伝子の解析 (受付番号 1601)
5. MIRAGE 症候群および関連疾患の自然歴と表現型スペクトラムに関する臨床研究 (受付番号 1677)