

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：29-7

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

主任研究者名 鳴海覚志 (所属施設) 国立成育医療研究センター
(所属・職名) 分子内分泌研究部・基礎内分泌研究室長

(研究成果の要約) 3年計画の2年目にあたる本年度、引き続き、症例の遺伝子診断と登録、生体試料のバンキングを行った。SAMD9 遺伝子解析の検体を全国から受けつけ、新たに1例のMIRAGE 症候群確定例を診断した。本年度の電子顕微鏡観察は疾患モデル細胞の分子病態解析を目的に行い、新たな知見(細胞骨格異常)をみいだした。フローサイトメトリーによるイムノフェのタイピング解析も継続しており、疾患特異的な免疫異常パターンを分析中である。また、MIRAGE 症候群典型例とは異なる臨床像の患者コホートとして、モノソミー7 関連血液疾患での遺伝子変異スクリーニングを精力的に行い、国内外でも最大規模の検体収集を達成した。

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) 電子顕微鏡を用いた病態解析(担当: 芝田)

本年度は、疾患モデル細胞(変異型 SAMD9 を薬剤誘導性に発現する HEK293 細胞)に対し、走査電子顕微鏡を用いた解析を行った。培養細胞の観察に適した一次固定方法および界面活性剤投与方法を探索し、本分担課題の目的に適した条件を明らかにした。次に、最適化された固定、界面活性剤投与プロトコールを疾患モデル細胞に適用し、細胞内小器官および細胞内骨格の微細構造を走査電子顕微鏡にて観察した。このような解析方法そのものが新規のものであり、分子レベル病態解明につながる基礎知的知見を収集できた。

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
齋藤潤	京都大学 iPS 細胞研究所
芝田晋介	慶應義塾大学医学部
野々山恵章	防衛医科大学校

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)

2018年度、国内でMIRAGE 症候群を疑われた患者2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、2017年度に診断していたMIRAGE 症候群患者1例から、皮膚線維芽細胞を樹立した。この皮膚線維芽細胞は増殖障害などMIRAGE 症候群の形質を有しており、今後分子生物学的な分析を行う予定である。

(3) フローサイトメトリーを用いたイムノフェのタイピング(担当: 野々山)

2018年度は1名のMIRAGE 症候群患者に対しイムノフェのタイピングを実施した。これまで予備的検討から得られていた疾患特徴的なパターンが、新たに解析された患者においても確認された。

(4) 患者由来 iPS 細胞の樹立 (担当: 齋藤)

2017 年度に樹立したリバージョン変異を有する日本人 MIRAGE 症候群患者 1 名 iPS 細胞 18 クローンの *SAMD9* 全領域の配列解析を行った。病原性変異を有し、リバージョン変異のない細胞を得ることが目的であったが、18 クローン全てがリバージョン変異を獲得していることが判明した。このことは、リバージョン変異を有する細胞が有しない細胞よりも iPS 細胞として樹立されやすいことを示す世界で初めての知見である。

2018 年度、日本人 MIRAGE 症候群患者 1 名 (リバージョン変異なし) の末梢血から iPS 細胞を樹立した。

(5) 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ている。本研究では、モノソミー 7 血液疾患に対し、*SAMD9/SAMD9L* の遺伝子解析を行い、これら患者集団における *SAMD9/SAMD9L* の役割を確立すると同時に MIRAGE 症候群の表現型スペクトラムが拡張しうるか否かを検証するものである。2017 年度までに 6 名で解析を行っていたが、本年度さらに 14 名の解析を行った。その結果、前年までとあわせて計 20 名中 4 名において *SAMD9* もしくは *SAMD9L* のレアバリエントを、別の 1 名において *SAMD9L* のレアバリエントを検出した。今後、発現実験による機能解析などを通じて、疾患発症との関連を検証予定である。

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。