

主論文の要旨

**Successful treatment of a novel type I interferonopathy  
due to a *de novo* PSMB9 gene mutation with a Janus  
kinase inhibitor**

〔 JAK 阻害薬が有効であった PSMB9 遺伝子変異による  
新規 I 型インターフェロン異常症 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
発育・加齢医学講座 小児科学分野

(指導：高橋 義行 教授)

片岡 伸介

## 【緒言】

自己炎症性疾患は、抗原特異的な T 細胞や高力価の自己抗体が存在しない場合に、自然免疫の調節不全や全身性の炎症を特徴とする。

I 型インターフェロン異常症は、近年確立された自己炎症性疾患のサブグループであり、Aicardi-Goutières syndrome (AGS)、STING-associated vasculopathy with onset in infancy (SAVI)、Chronic Atypical Neutrophilic Dermatitis with Lipodystrophy and Elevated Temperature Syndrome (CANDLE)などが含まれる。I 型インターフェロン異常症患者は、両側の基底核石灰化、凍瘡様皮疹、肝機能障害など、いくつかの臨床的特徴を共有している。また、それぞれのサブタイプには、AGS の早期発症の脳症や SAVI の肺高血圧症など、疾患特有の重篤な合併症が存在する。

これらの疾患に共通する発症メカニズムは、プロテアソーム分解や細胞質内 RNA および DNA 感知経路に関連する遺伝子の変異によって引き起こされる I 型インターフェロン経路の過剰活性化である。患者由来の細胞を用いた *in vitro* 実験や症例報告では、トファシチニブなどの Janus kinase (JAK) 阻害剤がこれらの疾患の治療に有効であることが示唆されている。本論文では、同種造血細胞移植前のブリッジング治療としてトファシチニブの投与が成功した、*de novo* の Proteasome 20S subunit beta 9 (PSMB9) ミスセンス変異を有する新規の I 型インターフェロン異常症の症例を報告する。

## 【対象及び方法】

生後 1 か月の男児が、発熱、両側基底核石灰化(図 1, A)、凍瘡様皮疹、肝機能障害、肺高血圧(図 1, C)を呈し、血清及び髄液中インターフェロン  $\alpha$  値の上昇から、I 型インターフェロン異常症と診断された。原因遺伝子検索のため、患者と両親に対して、原因遺伝子検索のため全エクソームシーケンスを行った。

また、患者及び両親由来リンパ芽球様細胞株 (lymphoblastoid cell line: LCL) を樹立した。さらに、レンチウイルスベクターを用いて野生型及び変異型の PSMB9 遺伝子を発現させた父由来 LCL を作成し、プロテアソーム活性及び免疫プロット・免疫沈降の実験に用いた。

## 【結果】

患者及び両親の全エクソームシーケンスの結果、患者にはヒトの疾患の原因遺伝子としてこれまで報告されていなかった PSMB9 の *de novo* ヘテロ接合性ミスセンス変異 (NM\_002800.5:c.467G>A, p.G156D) が同定された(図 1, D)。三次元構造解析の結果、PSMB9 のアミノ酸置換部位は、免疫プロテアソームの 2 つの  $\beta$  リングにおいて互いに隣接していることが判明した(図 1, F-I)。また、自己炎症性疾患を含む既知の遺伝性疾患に関連する他の病原性遺伝子変異は検出されなかった。

患者に見出された PSMB9 p. G156D 遺伝子変異が疾患の原因となっていることを調べるために、患者由来 LCL と健常者である両親由来の LCL を用いて機能解析を実施

した。プロテアソーム活性を測定したところ、患者由来 LCL ではキモトリプシン様プロテアーゼ活性、トリプシン様プロテアーゼ活性、カスパーゼ様プロテアーゼ活性のほとんどを失っていた(図 2, A)。父由来 LCL、母由来 LCL では血縁関係のない健康者由来 LCL と同等のプロテアソーム活性を有していた。さらに父由来 LCL にレンチウイルスベクターを用いて PSMB9 p.G156D 変異タンパクを過剰発現させたところ、患者由来 LCL と同様にプロテアソーム機能が有意に低下することが明らかになった(図 2, B)。

抗 PSMB9 抗体を用いた免疫ブロットでは、両親由来 LCL で確認されたバンドと比較して、患者由来 LCL では約 10kDa 程度大きいタンパク質のバンドが確認された(図 2, D)。抗 PSMB9 抗体で免疫沈降させたタンパクに対して、抗ユビキチン抗体を用いた免疫ブロットを行うと、患者由来 LCL では両親由来 LCL に比べてユビキチン化が促進されていることが判明した(図 2, E)。これらの結果から、患者由来 LCL では、PSMB9 タンパク質のユビキチン化が促進され、分解が進んでいることが示唆された。

また、患者におけるインターフェロン $\alpha$ の上昇と JAK-STAT シグナル経路の関係について明らかにするため、リン酸化 STAT1 の免疫ブロットを実施した。インターフェロン刺激を外部から加えた後に連続して測定すると、父由来 LCL の STAT1 のリン酸化レベルは、IFN- $\alpha$  刺激 8 時間後にはベースレベルまで低下したが、患者由来 LCL は IFN- $\alpha$  刺激 24 時間後でも高いリン酸化レベルを維持した。さらに、この外因性 IFN- $\alpha$  による患者由来 LCL の STAT1 のリン酸化は、JAK 阻害剤であるトファシチニブの添加により阻害されることを確認した(図 2, F)。

### 【考察】

これらの機能解析の結果から、PSMB9 p.G156D 変異タンパクがプロテアソームの分解を促進し、正常 PSMB9 タンパクの機能を抑制していると示唆された。本症例は PSMB9 p.G156D 遺伝子変異による新規の I 型インターフェロン異常症であると考えられた。

患者の臨床経過としては、体外式膜型人工肺(Extracorporeal Membranous Oxygenation: ECMO)による管理が必要な重症肺高血圧を合併していたが、JAK 阻害薬であるトファシチニブの投与により、病勢を反映すると考えられる血清インターフェロン $\alpha$ は低下し、ECMO および人工呼吸管理から離脱することに成功した(図 1, E)。その後、生後 7 か月時において、根治目的に臍帯血移植が行われ、トファシチニブの投与を中止できた。現在、移植後 2 年以上が経過しているが、I 型インターフェロン異常症の再燃は認めていない。本症例の経過から、PSMB9 p.G156D 変異による重症 I 型インターフェロン異常症に対して、JAK 阻害薬及び造血幹細胞移植の治療が有効である可能性が示唆された。

### 【結論】

本研究により、①肺高血圧を伴う I 型インターフェロン異常症では PSMB9 遺伝子

変異が原因となる可能性があること、②*PSMB9* p.G156D 変異による I 型インターフェロン異常症では、**JAK** 阻害薬が有効である可能性があること、が明らかになった。