

博士の学位論文審査結果の要旨

申請者氏名 前田 彩花

横浜市立大学大学院医学研究科 幹細胞免疫制御内科学

審査員

主査	横浜市立大学大学院医学研究科	産婦人科学	主任教授	宮城 悦子
副査	横浜市立大学大学院医学研究科	運動器病態学	主任教授	稲葉 裕
副査	横浜市立大学大学院医学研究科	臨床統計学	主任教授	山本 紘司

博士の学位論文審査結果の要旨

Efficient detection of somatic *UBAI* variants and clinical scoring system predicting patients with variants in VEXAS syndrome

(VEXAS 症候群における *UBAI* 体細胞バリエントの検出手法の検討, および臨床的スコアリングシステムの開発)

論文の要旨:

《背景・目的》

VEXAS 症候群 (Vacuoles, E1 enzyme, X-linked, autoinflammatory, somatic) は, 2020 年 10 月に Beck ら (2020) により初めて報告された. タンパク質のユビキチン化を開始させる E1 酵素をコードする X 染色体上の *UBAI* 遺伝子の体細胞バリエントが原因で, 全身の様々な炎症症状, 血液学的異常, 骨髄系・赤芽球系前駆細胞の特徴的な空胞などを呈する. 初報以降, 世界中から数多くの報告がなされ, VEXAS 症候群の臨床像が急速に明らかにされた. 治療選択や予後予測のために正確な分子診断が求められるが, 遺伝子解析手法や診断基準について未だ標準化されていない. 本邦でも, 横浜市立大学から国内初の *UBAI* 遺伝子解析症例 (Tsuchida et al., 2021) を報告して以来, 疑い症例の解析依頼が当学に数多く寄せられており, 国内の診断・診療体制の早急な整備が必要である. 本研究では, 横浜市立大学幹細胞免疫制御内科学教室において, 臨床的に VEXAS 症候群が疑われた患者を前向きに収集し, 遺伝学教室にて複数の遺伝子解析手法を用い *UBAI* バリエントについて評価し, 遺伝子解析の精度および妥当性について検討した. さらに, 対象症例の臨床的特徴について多面的に解析し, *UBAI* 遺伝子解析の必要性を判断するための簡便なスコアリングシステムを開発した.

《方法》

臨床的に VEXAS 症候群が疑われ, 横浜市立大学で遺伝子スクリーニングを行った日本人患者で, 発症年齢は 20 歳以上で, 性別は不問とし, 炎症症状と血液学的異常の片方あるいは両方を示すものを対象とした. 収集期間は 2021 年 4 月から 2022 年 10 月で, 共同研究機関の担当医を介して臨床情報および血液検体を収集した. 対象患者の末梢血液からゲノム DNA を抽出し, 通常の PCR, ペプチド核酸クランピング PCR (Peptide nucleic acid-clamping PCR : PNA-PCR), サンガーシーケンス, QIAcuity digital PCR system (QIAGEN 社) を用いたデジタル PCR (Partitioning digital PCR : pdPCR), ターゲットアンプリコンシーケンス (Targeted amplicon sequencing : TAS) を用いて, *UBAI* バリエントを評価した. さらに我々は, *UBAI* バリエント陽性患者と陰性患者を予測するための臨床的スコ

アリングシステムを開発し、ROC 解析によりその予測能を評価した。

《結果》

臨床的に VEXAS 症候群が疑われた 89 例の患者を収集し、通常の PCR と PNA-PCR を組み合わせた *UBAI* バリエントスクリーニングを行うと、40 例 (44.9%) が *UBAI* バリエント陽性であった。うち 1 例は、通常の PCR 産物のシーケンスでは検出困難であり、PNA-PCR 産物のシーケンスでバリエントを検出した。pdPCR で評価したところバリエントアレル頻度 (variant allele frequency : VAF) 1.7%の低頻度バリエントを認めた。pdPCR または TAS で *UBAI* バリエント陽性患者の VAF を評価すると、VAF 1.7~93.3%と幅広い分布が見られ、バリエント毎で分布の傾向に差を認めた。*UBAI* 陽性患者と陰性患者の臨床所見を比較すると、*UBAI* 陽性患者では、皮膚病変 (90.0%)、肺病変 (72.5%)、大球性貧血 (97.5%)、骨髄空胞像 (91.7%)が有意に多かったが、いずれも非特異的な臨床徴候であった。VEXAS 症候群においては、単一の徴候ではなく、複数の徴候を組み合わせることで VEXAS 症候群が疑わしい患者群を抽出できるものと推察され、これまでに VEXAS 症候群と強い関連が知られている発症年齢、皮膚病変、肺病変、軟骨炎、大球性貧血の 5 項目による、新たなスコアリングシステム (大球性貧血のみ 2 点、他は各 1 点、合計点 0~6 点) を開発した。対象患者 89 例にこのスコアリングシステムを適応すると AUC=0.908 となり、良好な予測能が得られた。

《考察》

通常の PCR と PNA-PCR を組み合わせた *UBAI* バリエントスクリーニングにより、*UBAI* 体細胞バリエントを有する症例を非常に高精度に検出することができた。本研究で提案した遺伝子解析手法および新規スコアリングシステムは、VEXAS 症候群の診療に深い洞察を与え、本邦における VEXAS 症候群の診断および診療体制の整備を進める基盤になるものと考えられた。

審査にあたり上記内容の説明がなされた後、以下の質疑応答が行われた。

まず、稲葉副査より以下のような講評・質問がなされた。

- 1) VEXAS 症候群は表現型や重症度は様々なようだが、診断はどのように行うのか。基準が定まっていなければ判断が難しいのではないか。
- 2) 治療に関するエビデンスはどうか。遺伝子解析および早期治療介入による影響はあるのか。
- 3) 今回のスコアリングシステムで、大球性貧血のみ 2 点とした理由は何か。

これらの講評・質問に対して、以下の回答がなされた。

- 1) VEXAS 症候群の診断基準は、現時点では国内外共に定まっていない。既報では多種多様な臨床徴候・経過が報告されており、最終的には臨床症状と遺伝

子解析を組み合わせた形式になると予想される。

2) 治療に関しては副腎皮質ステロイドがある程度有効であるが、その他の免疫抑制療法についてはシステマティックレビューを見ても有効性が際立った製剤はない。治療介入時期に関する指針も未だ存在しないが、*UBAI* p.Met41Val は他の p.Met41 関連バリエーションと比べて予後が悪いことが知られているので、将来的にはバリエーションの種類によって治療方針が変わる可能性があると考えている。

3) 大球性貧血は経過中にほぼ必発の所見であることと、膠原病など慢性炎症を引き起こす疾患では正球性貧血が多いため、大球性貧血は造血障害を疑うきっかけとなり鑑別に非常に有用であることの、二つが主な理由である。実際には、手元のデータを用いて各徴候のオッズ比を事前に算出しており、スコアリングの内容および項目数設定の際に参考にした。

続いて、山本副査より以下のような講評・質問がなされた。

1) オッズ比は単変量解析で算出したものか。スコアの付け方には色々な方法があり正解はないが、多変量解析で算出したオッズ比に基づいて点数を付ける方法もある。また、変数選択として **Adaptive Lasso**、バリデーションの際に母集団を二分して症例数が減ることを避けるためのブートストラップ法なども、今後の研究の際に検討しても良いかもしれない。

2) スコアリングシステムについて外部施設での検証は興味深いですが、スコア 3 点というカットオフはどのように設定したのか。ROC 曲線のカットオフ値を決める方法として **Youden index** などもあるが。

これらの講評・質問に対して、以下の回答がなされた。

各徴候のオッズ比は単変量解析で算出した。カットオフについては、**Youden index** では 4-5 点あたりになるが、今回は実臨床において遺伝子解析を行うべき症例の取りこぼしが無いことを重視し、あえて 3 点に設定した。

最後に、宮城主査より以下のような講評・質問がなされた。

1) 再発性多発軟骨炎の他に、**VEXAS** 症候群と病態が重複する既知の症候群はどのようなものがあるか。初報では再発性多発軟骨炎の診断例が含まれていたということだが、再発性多発軟骨炎の診断に引っ張られず評価すべきということか。

2) 重症化予測因子は何が知られているか、重症度スコアなどは存在するのか。

3) **VEXAS** 症候群に合致する表現型であっても、*UBAI* バリエーション陰性の場合には別の疾患と考えるべきか。

4) 卵巣癌では *BRCA* 遺伝子の病的バリエーションが見つかり、*BRCA* の機能が解明されたことを契機に、治療も一気に進展した。**VEXAS** 症候群における *UBAI* バリエーションの機能についてはどこまで判明しているのか。

5) 本研究への貢献度はどうか。また、本研究の今後の展望はどうか。

これらの講評・質問に対して、以下の回答がなされた。

- 1) VEXAS 症候群に由来する臨床徴候の一部が、他疾患の診断基準を満たす場合がある。再発性多発軟骨炎以外にも骨髄異形成症候群，Sweet 症候群，血管炎などの診断が重複することが知られており，自施設症例でも同様であった。
- 2) VEXAS 症候群は経時的に病態が悪化し，治療に必要な副腎皮質ステロイド量が増えていくことが知られている。重症化や予後予測因子については未だ明らかにされていない。
- 3) 今回遺伝子解析を行った *UBAI* p.Met41 関連バリエントを有する症例は炎症症状が派手で，その例外の領域の *UBAI* バリエントを有する症例は炎症症状が軽微との報告があり，将来的にさらに多くの症例が蓄積されれば，両者はより明確に区別可能と思われる。*UBAI* バリエント陰性で表現型が同様の症例に関しては，未知の *UBAI* バリエントを保有しているのか，それとも別疾患なのかは不明である。
- 4) *UBAI* p.Met41 関連バリエントでは，*UBAI* p.Met41 を転写開始点として本来生じるはずの *UBA1b* 量が減少することが炎症性病態と関連することが知られている。病態に関してその他の回答は持ち合わせていない。
- 5) 本研究は VEXAS 症候群の臨床徴候の関する部分と，遺伝子解析に関する部分の2つのパートからなる。貢献度としては，共同研究施設の研究参加や検体発送などの補助と，臨床情報の収集および解析を行った。今後の展望としては，本研究で得られた *UBAI* バリエント陽性患者の治療・予後情報はすでに収集済みであり，今後論文化予定である。国内での *UBAI* 遺伝子解析の需要が明らかとなったため，遺伝子解析体制については精度管理が可能な外部機関への委託を目指し調整を進めている。

(主査の総括)

学位申請者は、全身の様々な炎症症状，血液学的異常などを呈する新しい概念の疾患である VEXAS 症候群について、X 染色体上の *UBAI* バリエントスクリーニングを詳細に行い、遺伝学的検索の重要性を明らかにし、さらに社会実装につながる可能性のある新規スコアリングシステムも開発した。将来的に患者の診断・治療の向上につながる可能性のある学問的価値の高い研究であると、主査・副査ともに評価した。質疑応答も的確になされ、研究全体への申請者の貢献も申し分なく、博士（医学）の学位授与に値すると判断された。

2024 年 2 月 27 日

主査 産婦人科学教室主任教授 宮城悦子