

Plt : _____ 万/ μ l
HbF : _____ NAP score : _____

経過中最悪値 (年齢 : ____ 歳 ____ か月)
WBC : _____ / μ l Neutrophil : _____ / μ l
Hb : _____ g/dl MCV : _____ fl
Plt : _____ 万/ μ l

診断時骨髄所見 (年齢 : ____ 歳 ____ か月)
Cellularity : 低形成 / 正形成 / 過形成
NCC : _____ / μ l Mega : _____ / μ l
形態異常 : なし / あり (_____)
骨髄染色体異常 : なし/あり (_____)

最近の骨髄所見 (年齢 : ____ 歳 ____ か月)
Cellularity : 低形成 / 正形成 / 過形成
NCC : _____ / μ l Mega : _____ / μ l
形態異常 : なし / あり (_____)
骨髄染色体異常 : なし/あり (_____)

膵外分泌不全

診断時血液検査所見 (年齢 : ____ 歳 ____ か月)
血清 AMY : _____ IU/L Trypsin : _____ ng/ml Lipase : _____ U/L
Trypsinogen _____ ng/ml
25-OH Vitamin D : _____ ng/ml Vitamin K : _____ ng/ml

経過中最悪値 (年齢 : ____ 歳 ____ か月)
血清 AMY : _____ IU/L Trypsin : _____ ng/ml Lipase : _____ U/L
Trypsinogen _____ ng/ml
25-OH Vitamin D : _____ ng/ml Vitamin K : _____ ng/ml

便中脂肪 : 陽性 / 陰性 (年齢 : ____ 歳 ____ か月)
膵外分泌機能検査 : 実施 / 未実施 (実施年齢 : ____ 歳 ____ か月)

画像検査

腹部超音波：実施 / 未実施（実施年齢：___ 歳 ___ か月）

異常所見：なし / あり（_____）

腹部 CT：実施 / 未実施（実施年齢：___ 歳 ___ か月）

異常所見：なし / あり（_____）

腹部 MRI：実施 / 未実施（実施年齢：___ 歳 ___ か月）

異常所見：なし / あり（_____）

骨格異常

骨 X 線検査：実施 / 未実施

胸郭異常：なし / あり

Metaphyseal dystosis：なし / あり

その他の異常所見：なし/あり（_____）

肝機能異常

診断時血液検査所見（年齢：___ 歳 ___ か月）

AST：_____ IU/L ALT：_____ IU/L LDH：_____ IU/L

γ-GTP：_____ IU/L T-Bil：_____ mg/dl

経過中最悪値（年齢：___ 歳 ___ か月）

AST：_____ IU/L ALT：_____ IU/L LDH：_____ IU/L

γ-GTP：_____ IU/L T-Bil：_____ mg/dl

感染症

易感染性：なし / あり

重症感染症：なし / あり

免疫能

免疫グロブリン（年齢：___ 歳 ___ か月）

IgG：_____ mg/dl IgA：_____ mg/dl IgM：_____ mg/dl

リンパ球サブセット：実施 / 未実施（年齢：___ 歳 ___ か月）

異常所見：なし / あり（_____）

染色体異常、MDS/白血病、悪性腫瘍発症

骨髄染色体異常：なし / あり 出現時期：____ 歳 ____ か月時

ありの場合 ⇒ 核型：_____

MDS 発症：なし / あり

ありの場合 ⇒ 病型：_____

発症時期：____ 歳 ____ か月時

白血病発症：なし / あり

ありの場合 ⇒ 病型：_____

発症時期：____ 歳 ____ か月時

治療

G-CSF 投与：なし / あり

ありの場合 ⇒ 投与量：_____ 投与開始時期：____ 歳 ____ か月時

効果：_____

輸血：

赤血球：なし / あり

ありの場合 ⇒ 頻度：_____

血小板：なし / あり

ありの場合 ⇒ 頻度：_____

免疫抑制剤：なし / あり

ありの場合 ⇒ 薬剤：_____ 投与開始時期：____ 歳 ____ か月時

効果：_____

造血細胞移植：なし / あり

ありの場合 ⇒ 移植ソース：_____

前処置：_____

GVHD 予防：_____

合併症：_____

転帰：_____

膵酵素補充療法：なし / あり

ありの場合 ⇒ 開始時期：____ 歳 ____ か月時

ビタミンD補充療法：なし / あり

ありの場合 ⇒ 開始時期： ____ 歳 ____ か月時

ビタミンK補充療法：なし / あり

ありの場合 ⇒ 開始時期： ____ 歳 ____ か月時

成長ホルモン療法：なし / あり

ありの場合 ⇒ 開始時期： ____ 歳 ____ か月時

転帰

無病生存 / 有病生存 / 死亡

死亡の場合 ⇒ 死亡時期： ____ 歳 ____ か月時

死因： _____

その他特記事項などありましたらご記入ください。

調査は以上です。ご協力ありがとうございました。

Shwachman-Diamond 症候群 2 次調査 記入用紙 (2)

Shwachman-Diamond 症候群の診断基準に関する 2 次調査

Shwachman-Diamond 症候群について北米で提案されている診断基準には以下の項目が含まれております。それぞれの項目について、あり・なし・不明を御回答下さい。別紙と重複する項目もございますが、どうぞよろしくお願ひいたします。

貴施設名： _____ 貴診療科名： _____ 科
連絡責任医師名： _____
患者 ID： _____

I. 両アリル *SBDS* 遺伝子変異 あり・なし・不明

II. 膵外分泌不全

1. 膵外分泌酵素低値

3 歳未満でトリプシノーゲン低値 あり・なし・不明

かつ／または

3 歳以上で膵型アミラーゼ低値 あり・なし・不明

2. MRI、CT 等の画像で小型あるいは脂肪の多い膵を認める あり・なし・不明

3. 7 2 時間収集で便中脂質が増加しており、かつ腸生検で異常を認めない
あり・なし・不明

4. 便中エラスターゼ-1 が便 1 g 中 100 μ g 以下である あり・なし・不明

III. 骨髄不全

1. 絶対数 1500 未満の好中球減少 (3 ヶ月以上 3 回以上) あり・なし・不明

2. 年齢別正常値と比較したヘモグロビン低値あるいは MCV 高値 (3 ヶ月以上に
渡り 3 回以上) あり・なし・不明

3. 血小板数 15 万以下の血小板減少 (3 ヶ月以上 3 回以上) あり・なし・不明

4. 汎血球減少 あり・なし・不明

5. 骨髄検査で形態異常、白血病、骨髄異形成症候群、低形成、染色体異常のうち一つ以上に該当する。
あり・なし・不明

* いずれも、他に明らかな原因がある場合は除外される。

IV. その他の所見

骨異形成、先天性胸郭変形と合致する先天性骨格異常	<u>あり・なし・不明</u>
3パーセントイル未満の低身長	<u>あり・なし・不明</u>
2つ以上の脂溶性ビタミン (A, 25-OHD, E) の不足	<u>あり・なし・不明</u>

V. 家族歴

1 親等あるいは 2 親等の血縁者に以下の項目に当てはまるものがある

Shwachman-Diamond 症候群	<u>あり・なし・不明</u>
再生不良性貧血	<u>あり・なし・不明</u>
血球産生低下による血球減少	<u>あり・なし・不明</u>
40 歳未満で白血病と診断された	<u>あり・なし・不明</u>
40 歳未満で癌と診断された	<u>あり・なし・不明</u>

ご協力ありがとうございました。

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金・難治性疾患克服事業「Shwachman-Diamond 症候群の効果的診断法の確立に関する研究」班

事務局：京都大学大学院医学研究科 発達小児科学 渡邊健一郎

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54

TEL: 075-751-3290, FAX: 075-752-2361

E-mail: wataken@kuhp.kyoto-u.ac.jp

II 分担研究報告

Shwachman-Diamond 症候群の
効果的診断法の確立に関する研究

研究分担者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授
研究協力者 濱 麻人 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 助教

研究要旨

日本小児血液学会は平成 21 年 2 月より再生不良性貧血 (AA)、骨髄異形成症候群 (MDS) および先天性造血不全症候群 (CBFS) を対象とした中央診断を開始した。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を 2 施設 (名古屋大学、聖路加国際病院) で、骨髄病理標本を 1 施設 (名古屋第一赤十字病院) で行っている。レビュー開始から 16 ヶ月間で 223 例がレビューされた。レビュー結果は AA が 95 例、MDS が 20 例 (CBFS3 例を含む)、若年性骨髄単球性白血病 (JMML) が 27 例、CBFS が 20 例、急性白血病が 16 例、その他が 48 例であった。CBFS20 例のなかに Shwachman-Diamond 症候群 (SDS) が 3 例含まれていた。AA、MDS および SDS を含む CBFS の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断を行うことによりその診断の精度が上昇したと考えられる。

A. 研究目的

小児 AA、MDS および SDS を含む CBFS は比較的まれな疾患で、免疫不全、自己免疫性疾患、感染症などさまざまな疾患と鑑別する必要があり診断は必ずしも容易ではない。多施設共同治療研究を行い、その結果を正しく評価するためには、統一した基準で鑑別診断を行う必要がある。これらの背景から、小児 AA、MDS および CBFS をより正確に診断するために、日本小児血液学会において AA、MDS、および CBFS を対象とした中央診断を行うことになった。

B. 研究方法

中央診断事務局を名古屋大学小児科に設置した。AA、MDS、あるいは CBFS が疑われる症例が発生した場合は、各施設から事務局に連絡をもらい、登録番号を発行した。以後はその番号でやりとりを行った (匿名化)。中央診断およびそれに伴う検査については患者保護者の同意を取得した後に行った。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を 2 施設 (名古屋大学小児科、聖路加国際病院小児科) で、骨髄病理標本を 1 施設 (名古屋第一赤十字病院病理部) で行った。AA が疑われる場合は PNH 型血球の測定、Dyskeratosis

congenita (DC) の鑑別のためにテロメア長測定を行った。JMML が疑われる場合はコロニーアッセイと JMML 関連遺伝子解析 (PTPN11、N-RAS、K-RAS、c-CBL) を名古屋大学小児科あるいは信州大学小児科で行った。

SDS は CBFS の一つであるが、膵外分泌機能不全、骨格異常を呈し、一部の症例は MDS や AML に進展することが知られている。また、前述の身体的特徴を有する場合の診断は比較的容易であるが、そうでない場合も多い。そのため、確定診断には SDS の責任遺伝子である SBDS の変異解析を行なった。

(倫理面への配慮)

中央診断およびそれに伴う検査については、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得、患者及び患者保護者の同意を取得した後に行った。

C. 研究結果

1. レビュー症例数

レビュー開始から 16 ヶ月間で 223 例がレビューされた。レビュー結果は AA が 95 例、MDS が 20 例 (CBFS3 例を含む)、JMML が 27 例、CBFS が 20 例、急性白血病が 16 例、その他 48 例であった。

CBFS20 例の中に SDS が 3 例含まれていた。

2. 再生不良性貧血

特発性 AA が 52 例、肝炎関連 AA が 8 例診断された。爪の萎縮などの所見を有し、DC が疑われた 3 症例については、いずれもテロメア長の著明な短縮を認めた。改訂版 WHO 分類 (2008 年) において小児における芽球の増加を伴わない MDS を refractory cytopenia of childhood (RCC) とし、末梢血芽球 5% 未満、骨髄芽球 5% 未満、骨髄における二血球系統以上の異形成の出現あるいは一血球系統における 10% 以上の異形成の出現と定義されている。今回は 34 例が RCC と診断された。RCC 症例の骨髄塗抹標本では、比較的細胞密度が保たれており、赤芽球に巨赤芽球様変化や 2 核のものを認め、顆粒球では偽ペルガー核異常や巨大後骨髄球を認めた。微小巨核球は同定されなかった。RCC と診断された症例の病理所見は、細胞密度が保たれており、赤芽球に巨赤芽球様変化や分布異常を認めた。微小巨核球は、免疫染色を用いることで容易に同定されていた。骨髄塗抹標本では AA と診断されたが病理所見で RCC と診断された症例を約 20% に認めた。それらの症例は骨髄塗抹標本でも赤芽球に巨赤芽球様変化などの異形成を認めていたが 10% 未満であったために AA と診断されていた。RCC の診断は骨髄塗抹標本のみでは困難であり、病理診断が重要な役割を果たしている。

3. MDS

20 例が MDS と診断された。RCMD が 5 例、RAEB が 7 例、二次性 MDS が 4 例、治療関連 MDS が 3 例、CMML が 1 例であった。二次性 MDS は AA の免疫抑制療法施行から 1 年後の移行が 1 例、Fanconi 貧血からが 1 例、SDS からが 2 例であった。治療関連 MDS は骨肉腫の治療終了 1 年後、神経芽腫の治療終了 1 年後およびランゲルハンス細胞組織球症の治療終了 1 年後に発症した症例であった。

4. JMML

27 例が JMML と診断された。そのうち 16 例で遺伝子変異が確認され、PTPN11 変異が 3 例、N-RAS 変異が 10 例、K-RAS 変異が 3 例であった。NF1 合併例を 2 例、Noonan 症候群に合併した骨髄増殖症を 2 例認めた。

5. CBFS

SDS が 3 例、Fanconi 貧血が 3 例、DC が 3 例、先天性無巨核球性血小板減少症 (CAMT) が 1 例、Diamond-Blackfan 貧血が 5 例、Congenital

dyserythropietic anemia (CDA) (type2) が 1 例、乳児鉄芽球性貧血が 3 例、Kostmann 症候群が 1 例であった。SDS と診断された 3 例の詳細は以下のとおりである。

症例 1: 2 歳女児。低身長、難治性下痢あり。WBC 1200/ μ l, RBC 208 万/ μ l, Hb 7.0g/dl, Ht 20.8%, MCV 100fl, Ret 11%, Plt 1.2 万/ μ l。骨髄像: 3 血球系統に異形成を認め、RCMD と診断された。骨髄染色体は正常核型。SBDS 変異あり。

症例 2: 8 歳男児。ペルテス病の既往歴あり。WBC 2600/ μ l, RBC 255 万/ μ l, Hb 8.6g/dl, Ht 25.4%, MCV 99.6fl, Ret 9.2%, Plt 8.7 万/ μ l。骨髄像: 低形成ではあるが、少数の芽球と 3 血球系統の異形成を認め、RCMD と診断された。骨髄染色体: 46,XY,-7,+rl、SBDS 変異あり。

症例 3: 3 歳男児。睪外分泌機能不全あり。WBC 4100/ μ l, RBC 354 万/ μ l, Hb 11.4g/dl, Ht 32.7%, MCV 92.4fl, Ret 13.1%, Plt 4.8 万/ μ l。骨髄像: 赤芽球系、顆粒球系に軽度の異形成を認め、RCC と診断された。骨髄染色体は正常核型。SBDS 変異あり。

D. 考察

AA の診断において、赤芽球が残存している場合にはしばしば軽度の異形成を認めることがあり、低形成性 MDS との鑑別が問題になる。改訂版 WHO 分類 (2008 年) において小児における芽球の増加を伴わない MDS を refractory cytopenia of childhood (RCC) とし、末梢血芽球 5% 未満、骨髄芽球 5% 未満、骨髄における二血球系統以上の異形成の出現あるいは一血球系統における 10% 以上の異形成の出現と定義されている。RCC 典型例の末梢血塗抹標本では赤血球の大小不同や様々な奇形がみられ、好中球の低分葉や顆粒減少、血小板の大小不同が認められる。骨髄塗抹標本では多くは低形成で、赤芽球においては巨赤芽球様変化、多核赤芽球、核の分葉、核間架橋、顆粒球においては偽ペルガー核異常、顆粒の消失、減少、巨核球においては微小巨核球、分離核、小型円形核などが認められる。RCC の診断には骨髄生検は必須であり、骨髄の細胞密度、赤芽球、顆粒球、巨核球の異形成や分布の異常、CD34 陽性細胞の増加の有無などを評価する必要がある。

先天性 AA は AA 全体の約 10% を占め、Fanconi 貧血、DC、SDS、CAMT などが代表的な疾患である。このうち SDS は 3 例みられた。3 例中 2 例は、中央

診断登録以前に SBDS 遺伝子の変異が確認されていたが、1 例は診断がついていなかった。難治性下痢の存在から、膵外分泌機能不全の合併が疑われた。SDS が考えられたため、SBDS 遺伝子解析を施行したところ、変異が確認され、確定診断に至った。形態学的には 2 例で RCMD、1 例で RCC と診断され、RCMD の 1 例は monosomy7 を有していた。このように SDS は MDS への移行がみられるため、AA、MDS および CBFS を包括的に診断するシステムは非常に有用であり、SBDS などの遺伝子解析を組み込むことにより、より確実な診断をつけることができると考えられる。

E. 結論

AA、MDS および CBFS を対象とした中央診断を行うことにより、必ずしも診断が容易ではないこれらの疾患の診断の精度が上昇したと考えられる。特に SDS のようなまれな疾患はこのような中央診断登録システムを通して確実に診断がつけられていくと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshida N, Yagasaki H, Hama A, Takahashi Y, Kosaka Y, Kobayashi R, Yabe H, Kaneko T, Tsuchida M, Ohara A, Nakahata T, Kojima S. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica*. 2011 Jan 27. [Epub ahead of print]
- 2) Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A, Mizutani S. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. *Blood*. 2010 Nov 9. [Epub ahead of print]
- 3) Pulsipher MA, Young NS, Tolar J, Risitano AM, Deeg HJ, Anderlini P, Calado R, Kojima S, Eapen M, Harris R, Scheinberg P, Savage S, Maciejewski JP, Tiu RV, Difronzo N, Horowitz MM, Antin JH. Optimization of Therapy for Severe Aplastic Anemia Based on Clinical, Biological and Treatment Response Parameters: Conclusions of an International Working Group on Severe Aplastic Anemia Convened by the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network, March 2010. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Mar;17(3):291-9.
- 4) Nishio N, Kojima S. Recent progress in dyskeratosis congenita. *Int J Hematol*. 2010 Oct;92(3):419-24.
- 5) Kanezaki R, Toki T, Terui K, Xu G, Wang R, Shimada A, Hama A, Kanegane H, Kawakami K, Endo M, Hasegawa D, Kogawa K, Adachi S, Ikeda Y, Iwamoto S, Taga T, Kosaka Y, Kojima S, Hayashi Y, Ito E. Down syndrome and GATA1 mutations in transient abnormal myeloproliferative disorder: mutation classes correlate with progression to myeloid leukemia. *Blood*. 2010 116:4631-4638.
- 6) Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Saji H, Kato M, Ogawa S, Kojima S. Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA resulting from uniparental disomy after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2010 Apr 15;115(15):3158-61.

2. 学会発表

- 1) Takahashi Y, Doisaki S, Nishio N, Muramatsu H, Shimada A, Hama A, Kojima S. The telomere length in peripheral blood lymphocytes is a useful predictor of the response to immunosuppressive therapy in patients with acquired aplastic anemia. Session Type: Oral Session. 52nd ASH annual meeting. Dec. 4-7, 2010. Orland, USA
- 2) 濱麻人、真部淳、伊藤雅文、野沢和江、土居崎小夜子、村松秀城、嶋田明、高橋義行、小原明、小島勢二：小児再生不良性貧血と Refractory cytopenia of childhood の臨床像の比較：中央診断登録例 78 例の検討；第 52 回日本小児血液学会総会、2010 年 12 月 17 日～19 日、大阪

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担研究報告書）

Shwachman-Diamond 症候群の効果的診断法の確立に関する研究

（研究分担者 金兼 弘和・富山大学附属病院小児科・講師）

研究要旨

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は好中球減少症、膵外分泌異常、骨格異常を 3 徴とする疾患であるが、3 徴が揃わないこともしばしばであり、臨床的診断が困難なことが少なからずある。2004 年に SDS の原因遺伝子 *SBDS* が同定されて以来、遺伝子解析による確定診断が可能となり、当教室ではこれまで 10 家系以上の診断を行っている。今年度は 3 家系の SDS 患者を遺伝学的に同定した。

A. 研究目的

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は好中球減少症を始めとする血液学的異常、膵外分泌異常、骨格異常を主な症状とし、これらの症状以外にも多彩な症状を呈するため、臨床的診断が困難なことが少なからずある。2004 年に原因遺伝子 *SBDS* が同定されたのを機に当教室ではこれまで全国から遺伝子診断依頼を受け、10 家系以上の SDS を同定している。本研究では遺伝子解析により SDS の確定診断を行うことによって、本邦における SDS 患者の臨床的、遺伝学的特徴を明らかとすることを目的とする。

B. 研究方法

患者家族より同意が得られた後に EDTA 血 2ml を採取し、当教室まで送付する。DNA を抽出した後に、*SBDS* 遺伝子のエキソン 1～5 をそれ

ぞれ増幅し、ダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定し、コンピューター上で既存の配列と比較検討する。*SBDS* 遺伝子の近傍には 97%の相同性を有する偽遺伝子 *SBDSP* が存在するため、*SBDS* 遺伝子のみが増幅されるようにプライマー設定を行う。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言に従い、富山大学倫理審査委員会の承認を得ている。遺伝子解析にあたっては患者家族より文書による同意を得た後に行っている。

C. 研究結果

本年度は 3 家系の SDS を遺伝学的に同定した。*SBDS* 遺伝子変異はエキソン 2 の 183-184TA>CT と 258+T>C の複合ヘテロ接合体が高頻度であり、3 家系ともこの変異であった。（図 1）。

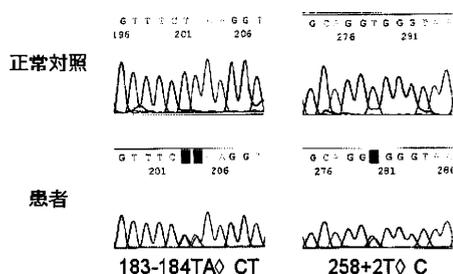


図1 *SBDS* 遺伝子解析

D. 考察

遺伝子変異が同定された3家系のSDSはすべてホットスポットの*SBDS*遺伝子変異を認めた。これまでの解析例とあわせるとわが国においても*SBDS*遺伝子変異はホットスポットがほとんどである。

E. 結論

これまで14家系15例のSDS患者を遺伝学的に同定してきたが、潜在的にもっと多くの患者が存在しているものと思われ、今年度施行された1次アンケートを踏まえて、さらに多くのSDS患者を同定することによって、わが国のSDS患者の臨床的・遺伝学的特徴を明らかにしていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表
特になし
2. 学会発表
特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担研究報告書）

Shwachman-Diamond 症候群の効果的診断法の確立に関する研究

（研究分担者 小林正夫・広島大学・小児科・教授）

研究要旨

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は好中球減少を主とする血球減少、腓外分泌異常、骨格異常を主徴とする先天性骨髄不全症候群である。稀であり臨床像が多様であるため、診断困難な例が存在する。今回、全国的な一次調査により本邦症例が把握された。二次調査により、詳細な臨床情報を収集し、診断ガイドラインを作成する。また、好中球の CD16 抗原発現とアポトーシスの関係を解析し、好中球減少の機序を検討する。

A. 研究目的

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は好中球減少を主とする骨髄不全、腓外分泌異常、骨格異常を主徴とする先天性骨髄不全症候群である。欧米に比べて本邦では頻度が低いと言われているが、臨床像が多様であるため診断困難な例が存在する。本研究では、いき学調査に基づき診断ガイドラインを作成することを目的とする。また、好中球の分化抗原である CD16 の発現とアポトーシスの関係を解析し、好中球減少の機序を検討する。

B. 研究方法

1. 全国疫学調査

一次調査として、小児科を標榜し入院施設のある全国 705 施設に、SDS 症例の有無に関する調査票を送付する。北米で行われている患者登録（North American registry）と共通の基準を用い、臨床診断例、疑い例の定

義を明確にして、確定診断例だけでなく、疑い例も把握できるようにする。症例ありと回答した施設に対し、臨床情報を収集するため二次調査を行う。この結果に基づき、診断ガイドラインを作成する。

2. CD16 抗原と好中球アポトーシス
好中球の CD16 抗原発現とアポトーシスを、抗 CD16 抗体、Annexin V/PI 染色を用いたフローサイトメトリーで検討した。

C. 研究結果

1. 全国一次調査

一次調査に対し 459 施設から回答が得られた（回収率 65.1%）。30 例が抽出され、内訳は遺伝子診断例 16 例、臨床診断例 9 例、疑い例 5 例であった。本邦での過去の報告例の中で、今回の一次調査の回答に含まれていない例が遺伝子診断例 13 例、疑い例 2 例あるため、それらを加えると合計 45 例

となった。

2. CD16 抗原と好中球アポトーシス

末梢血から分離した好中球を 10%FBS 存在下で 6 時間まで 37°C で静置すると、細胞表面 CD16 抗原の発現は経時的に減少し、同時に培養液中の可溶性 CD16 抗原は相補的に増加する。24 時間後には好中球表面 CD16 抗原はほとんど消失し、細胞外液中に可溶性蛋白として放出されることが確認できた。CD16 抗原を喪失していく過程での好中球死の状態を Annexin V と PI の二重染色で同定すると、CD16 抗原の減少と Annexin V 陽性細胞の増加は有意な相関を示した。重症先天性好中球減少症では末梢血にわずかに存在する好中球での解析から CD16 抗原の発現は著明に低下していた。

D. 考察

我々の施設では、先天性好中球減少症の遺伝子診断を行っている。SDS は好中球減少が主体であるので、好中球減少症と診断されている例の中に SDS 症例が混在している可能性がある。先天性好中球減少症の既知の遺伝子変異が認められない症例については SDS の可能性も考え、症候を再度検討し、場合によっては遺伝子解析を行う。

重症先天性好中球減少症患者の好中球における検討から、CD16 抗原発現と好中球アポトーシスには関連があると考えられ、SDS 症例でも同様な検討をすることで好中球減少の機序を解明できる可能性が示唆された。

E. 結論

一次調査により本邦での SDS 症例が把握された。今後、二次調査、遺伝子解析を行い、診断ガイドラインを作成する。また、CD16 と好中球アポトーシスについて検討を行うことで、SDS における好中球減少の機序を解明したい。

F. 研究発表

1. 学会発表

Ohno N, Kajiume T, Hayakawa S, Kobayashi Y, Utsunomiya A, Kobayashi M: Umbilical cord blood-derived stem cells cultured under low oxygen tension enhance the migration and homing efficacy through the increased expression of CXCR4.

52nd American Society of Hematology Annual Meeting, December 4-7, 2010.

Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Sakai H, Nishikomori R, Yasunaga S, Ohtsubo M, Murata T, Obata H, Yasumi T, Heike T, Nakahata T, Takaiharu Y, Kobayashi M: A Novel mutation K673R in STAT1 impaired the STAT1 signal transduction in a dominant-negative manner identified in a Japanese boy.

52nd American Society of Hematology Annual Meeting, December 4-7, 2010

Karakawa S, Okada S, Tsumura M, Yasunaga S, Ohtsubo M, Kawai T, Nishikomori R, Takihara Y, Kobayashi M: Decreased expression in NF- κ B essential modulator due to a novel splice-site mutation causes

ectodermal dysplasia with immunodeficiency.

52nd American Society of Hematology Annual Meeting, December 4-7, 2010

2. 論文発表

Ohno Y, Yasunaga S, Ohtsubo M, Ori S, Tsumura M, Okada S, Ohta T, Kiyoshi Ohtani, Kobayashi M, Takihara Y: Hoxb4 transduction down-regulates Geminin protein, providing hematopoietic stem and progenitor cells with proliferation potential. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010. (in press)

Shirao K, Okada S, Tajima G, Tsumura M, Hara K, Yasunaga S, Ohtsubo M, Hata I, Sakura N, Shigematsu Y, Takihara Y, Kobayashi M: Molecular pathogenesis of a novel mutation, G108D, in short-chain acyl-CoA dehydrogenase identified in subjects with short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. Human Genetics 127:619-28, 2010.

Kihara H, Ohno N, Karakawa W, Mizoguchi Y, Fukuhara R, Hayashidani M, Nomura S, Nakamura K, Kobayashi M: Significance of immature platelet fraction and CD-41-positive cells at birth in early onset neonatal thrombocytopenia. International Journal of Hematology 91: 245-251, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況
特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担研究報告書）

Shwachman-Diamond 症候群の効果的診断法の確立に関する研究

（研究分担者 伊藤悦朗・弘前大学・小児科・教授）

研究要旨

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は骨髄不全、膵外分泌異常、骨格異常を主徴とする稀な遺伝性疾患である。本邦では頻度が低いと言われているが、臨床像が多岐に渡るため診断に至っていない症例があることが予想される。今回、初めて全国的な疫学調査を行い、疑い例もあわせ 30 例が把握された。二次調査により、本邦症例の実態を解明し、診断ガイドラインを作成する。

A. 研究目的

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は骨髄不全、膵外分泌異常、骨格異常を主徴とする稀な遺伝性疾患である。欧米に比べて本邦では頻度が低いと言われているが、臨床像が多岐に渡るため診断に至っていない症例があることが予想される。本邦の患者が正確な診断を受けられるように、全国的な疫学調査を行い、診断ガイドラインを作成することを目的とする。

B. 研究方法

一次調査として、小児科を標榜し入院施設のある全国 705 施設に、SD 調査票を送付する。北米で行われている患者登録（North American registry）と共通の基準を用い、臨床診断例、疑い例の定義を明確にして、確定診断例だけでなく、疑い例も把握できるようにする。症例ありと回答した施設に対し、二次調査を行う。この結果に基づき、診断ガイドライ

ンを作成する。

C. 研究結果

459 施設から回答が得られた（回収率 65.1%）。遺伝子診断例 16 例、臨床診断例 9 例、疑い例 5 例の合計 30 例が抽出された。本邦での過去の報告例の中で、今回の一次調査の回答に含まれていない例が遺伝子診断例 13 例、疑い例 2 例あるため、それらを加えると合計 45 例が把握された。

D. 考察

疑い例については、症状が軽度の SDS 症例である場合と、他の疾患とすべき症例である可能性があると考えられる。臨床診断例を含め、遺伝子解析を進めていき、臨床情報とあわせて詳細な解析が必要と考えられた。

E. 結論

一次調査により本邦での SDS 症例が把握された。二次調査、遺伝子解析を行い、診断ガイドラインを作成する。

F. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
渡邊健一郎	先天性造血不全 -Shwachman-Diamond 症候群	第 52 回日本小児血液学会総会教育セッションテキスト		8-10	2010
Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Fujino H, Matsubara H, Adachi S, Suemori H, Nakahata T and Heike T	Neutrophil differentiation from human-induced pluripotent stem cells.	J Cell Physiol	226	1283-91	2011
Yoshida N, Yagasaki H, Hama A, Takahashi Y, Kosaka Y, Kobayashi R, Yabe H, Kaneko T, Tsuchida M, Ohara A, Nakahata T and Kojima, S	Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia.	Haematologica	95	771-4	2011
Takagi M, Shinoda K,	Autoimmune lymphoproliferative	Blood	117	2887-90	2011

Piao J, Mitsuiki N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A and Mizutani S	syndrome-like disease with somatic mutation.				
Pulsipher, MA, Young, NS, Tolar, J, Risitano, AM, Deeg, HJ, Anderlini, P, Calado, R, Kojima, S, Eapen, M, Harris, R, Scheinberg, P, Savage, S, Maciejewski, JP, Tiu, RV, DiFronzo, N, Horowitz, MM and Antin, JH	Optimization of therapy for severe aplastic anemia based on clinical, biologic, and treatment response parameters: conclusions of an international working group on severe aplastic anemia convened by the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network, March 2010.	Biol Blood Marrow Transplan t	17	291-9	2011
Nishio N,	Recent progress in	Int J	92	419-424	2010