

- 11) Willig TN, Draptchinskaia N, Dianzani I, et al. Mutations in ribosomal protein S19 gene and diamond blackfan anemia : wide variations in phenotypic expression. *Blood*. 1999 ; 94 : 4294-4306.
- 12) Ramenghi U, Garelli E, Valtolina S, et al. Diamond-Blackfan anaemia in the Italian population. *Br J Haematol*. 1999 ; 104 : 841-8.
- 13) Campagnoli MF, Garelli E, Quarello P, et al. Molecular basis of Diamond-Blackfan anemia : new findings from the Italian registry and a review of the literature. *Haematologica*. 2004 ; 89 : 480-9.
- 14) Gazda HT, Grabowska A, Merida-Long LB, et al. Ribosomal protein S24 gene is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hum Genet*. 2006 ; 79 : 1110-8.
- 15) Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, et al. Ribosomal protein S17 gene (RPS17) is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat*. 2007 ; 28 : 1178-1182.
- 16) Farrar JE, Nater M, Caywood E et al. Abnormalities of the large ribosomal subunit protein, Rpl35a, in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2008 ; 112 : 1582-1592.
- 17) Gazda HT, Sheen MR, Vlachos A et al. Ribosomal protein L5 and L11 mutations are associated with cleft palate and abnormal thumbs in Diamond-Blackfan anemia patients. *Am J Hum Genet*. 2008 ; 83 : 769-780.
- 18) Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H et al. Identification of mutations in the ribosomal protein L5 (RPL5) and ribosomal protein L11 (RPL11) genes in Czech patients with Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat*. 2009 ; 30 : 321-327.
- 19) Doherty L, Sheen MR, Vlachos A, Choemsel V, O'Donohue MF, et al. Ribosomal Protein Genes RPS10 and RPS26 Are Commonly Mutated in Diamond-Blackfan Anemia. *Am. J. Hum. Genet*. 2010 ; 86 : 222-228.
- 20) Leger-Silvestre I, Caffrey JM, Dawaliby R, et al. Specific Role for Yeast Homologs of the Diamond Blackfan Anemia-associated Rps19 Protein in Ribosome Synthesis. *J Biol Chem*. 2005 ; 280 : 38177-85.
- 21) Choemsel V, Bacqueville D, Rouquette J, et al. Impaired ribosome biogenesis in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2007 ; 109 : 1275-83.
- 22) Flygare J, Aspesi A, Bailey JC, et al. Human RPS19, the gene mutated in Diamond-Blackfan anemia, encodes a ribosomal protein required for the maturation of 40S ribosomal subunits. *Blood*. 2007 ; 109 : 980-986.
- 23) Choemsel V, Fribourg S, Aguisa-Touré AH et al. Mutation of ribosomal protein RPS24 in Diamond-Blackfan anemia results in a ribosome biogenesis disorder. *Hum Mol Genet*. 2008 ; 17 : 1253-1263.
- 24) Fumagalli S, Di Cara A, Neb-Gulati A, et al. Absence of nucleolar disruption after impairment of 40S ribosome biogenesis reveals an rpL11-translation-dependent mechanism of p53 induction. *Nat Cell Biol*. 2009 ; 11 : 501-508.
- 25) Ebert BL, Pretz J, Bosco J et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008 ; 451 : 335-339.

#### IV. 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

◎は、本研究によることが明記されている論文

○は、本研究に関連する論文

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
◎伊藤悦朗, 小島勢二, 大賀正一, 小原明「難治性貧血の診療ガイド」編集委員会	VII 先天性骨髄不全症 4. Diamond-Blackfan 貧血/診療の参照ガイド	「難治性貧血の診療ガイド」編集委員会	難治性貧血の診療ガイド 特発性造血障害の病態・診断・治療の最新動向	南江堂	東京	2011	220-227
大賀正一	血液・腫瘍性貧血 鉄欠乏性貧血	大関武彦	今日の小児治療指針第15版	医学書院	東京	2011 (印刷中)	
菅野 仁	先天性溶血性貧血	日本血液学会	血液専門医テキスト	南江堂	東京	2011	154-158

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
◎伊藤悦朗	Ribosomal protein と赤血球産生障害 (Diamond-Blackfan anemia と 5q 欠失症候群)	臨床血液	50(10)	215-223	2009
○Xu Y, Takahashi Y, Wang Y, Hama A, Nishino N, Muramatsu H, Tanaka M, Yoshida N, Villabos IB, Yagasaki H, Kojima S.	Downregulation of GATA-2 and Overexpression of Adipogenic Gene-PPARgamma in Mesenchymal Stem Cells from Patients with Aplastic Anaemia.	Exp Hematol.	37(12)	1393-9	2009
○Nanki T, Takada K, Komano Y, Morio T, Kanegane H, Nakajima A, Lipsky PE, Miyasaka N.	Chemokine receptor expression and functional effects of chemokines on B cells: implication in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.	Arthritis Res Ther.	5;11(5)	R149. [Epub ahead of print]	2009

Miyanaga M, Sugita S, Shimizu N, Morio T, Miyata K, Mochizuki M.	A significant association of viral loads with corneal endothelial cell damage in cytomegalovirus anterior uveitis.	Br J Ophthalmol.				2009 Sep 3. [Epub ahead of print]
Hasegawa D, Kaji M, Takeda H, Kawasaki K, Takahashi H, Ochiai H, Morio T, Omori Y, Yokozaki H, Kosaka Y.	Fatal degeneration of specialized cardiac muscle associated with chronic active Epstein-Barr virus infection.	Pediatr Int.	51	846-8		2009
Isoda T, Ford A, Tomizawa D, van Delft F, De Castro DG, Mitsuiki N, Score J, Taki T, Takagi M, Morio T, Saji H, Greaves M, Mizutani S.	Immunologically silent cancer clone transmission from mother to offspring.	Acad Sci USA.	106	17882-5		2009
○Morio T, Takahashi N, Watanabe F, Honda F, Sato M, Takagi M, Imadome KI, Miyawaki T, Delia D, Nakamura K, Gatti RA, Mizutani S.	Phenotypic variations between affected siblings with ataxia-telangiectasia: ataxia-telangiectasia in Japan.	Int J Hematol.	90	455-462		2009
Miyagawa Y, Kiyokawa N, Ochiai N, Imadome K-I, Horiuchi Y, Onda K, Yajima M, Nakamura H, Katagiri YU, Okita H, Morio T, Shimizu N, Fujimoto J, Fujiwara S.	Ex vivo expanded cord blood CD4 T lymphocytes exhibit a distinct expression profile of cytokine-related genes from those of peripheral blood origin.	Immunology	128	405-419		2009
Uchisaka N, Takahashi N, Sato M, Kikuchi A, Mochizuki S, Imai K, Nonoyama S, Ohara O, Watanabe F, Mizutani S, Hanada R, Morio T.	Two brothers with ataxia-telangiectasia-like disorder with lung adenocarcinoma.	J Pediatr.	155	435-438		2009

Morinishi Y, Imai K, Nakagawa N, Sato H, Horiuchi K, Ohtsuka Y, Kaneda Y, Taga T, Hisakawa H, Miyaji R, Endo M, Oh-Ishi T, Kamachi Y, Akahane K, Kobayashi C, Tsuchida M, Morio T, Sasahara Y, Kumaki S, Ishigaki K, Yoshida M, Urabe T, Kobayashi N, Okimoto Y, Reichenbach J, Hashii Y, Tsuji Y, Kogawa K, Yamaguchi S, Kanegane H, Miyawaki T, Yamada M, Ariga T, Nonoyama S.	Identification of severe combined immunodeficiency by T-cell receptor excision circles quantification using neonatal Guthrie cards.	J Pediatr.	155	829-83	2009
Futagami Y, Sugita S, Fujimaki T, Yokoyama T, Morio T, Mochizuki M.	Bilateral anterior granulomatous keratouveitis with sunset glow fundus in a patient with autoimmune polyglandular syndrome.	Ocul Immunol Inflamm.	17	88-90	2009
Takahashi N, Matsukoto K, Saito H, Nanki T, Miyasaka N, Kobata T, Azuma M, Lee S-K, Mizutani S, Morio T.	Impaired CD4 and CD8 effector function and decreased memory T-cell populations in ICOS deficient patients.	Immunology	182	5515-5527	2009
Yoshida H, Kusuki S, Hashii Y, Ohta H, Morio T, Ozono K.	Ex vivo-expanded donor CD4 T lymphocyte infusion against relapsing neuroblastoma: A transient Graft-versus-Tumor effect.	Pediatr Blood Cancer	52	895-897	2009
Katsuragi S, Ohga S, Horiuchi H, Hara T, Terao K, Ikeda T.	Neonatal onset hemophagocytic lymphohistiocytosis in a premature infant.	Pediatric Blood & Cancer	53	244-245	2009

○Suzuki N, Morimoto A, Ohga S, Kudo K, Ishida Y, Ishii E.	Characteristics of hemophagocytic lymphohistiocytosis in neonates: a nationwide survey in Japan.	J Pediatr.	155	235-238	2009
○Ishimura M, Ohga S, Ichiyama M, Kusahara K, Takada H, Hara T, Takahashi M, Okamoto H.	Hepatitis-associated aplastic anemia during a primary infection of genotype 1a torque teno virus.	Eur J Pediatr.		in press	2010
○Muramatsu H, Makishima H, Cazzolli H, O'Keefe C, Yoshida N, Xu Y, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Takahashi Y, Kato K, Manabe A, Kojima S, Maciejewski JP.	Mutations of E3 ubiquitin ligase Cbl family members but not TET2 mutations are pathogenic in juvenile myelomonocytic leukemia.	Blood		in press	2010
Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, Notarangelo LD, Burns S, Imai K, Espanol T, Fasth A, Pellier I, Strauss G, Morio T, Gathmann B, Noordzij JG, Fillat C, Hoenig M, Nathrath M, Meindl A, Pagel P, Wintergerst U, Fischer A, Thrasher AJ, Belohradsky BH, Ochs HD.	X-linked thrombocytopenia (XLT) due to WAS mutations: Clinical characteristics, long-term outcome, and treatment options.	Blood			2010 Feb 19. [Epub ahead of print]
Oba D, Hayashi M, Minamitani M, Hamano S, hisaka N, Kikuchi A, Kishimoto H, Takagi M, MorioT, Mizutani S.	Autopsic study of cerebellar degeneration in siblings with ataxia-telangiectasia-like disorder (ATLD).	Acta Neuroathologica			2010 in press
Inoue H, Takada H, Kusuda T, Goto T, Ochiai M, Kinjo T, Muneuchi J, Takahata Y, Takahashi N, Morio T, Kosaki K, Hara T.	Successful cord blood transplantation for a CHARGE syndrome with CHD7 mutation showing DiGeorge sequence including hypoparathyroidism.	Eur J Pediatr.			2010 Jan 6. [Epub ahead of print]

©Ito E, Konno Y, Toki T, Terui K.	Molecular pathogenesis in Diamond-Blackfan anemia.	Int J Hematol.	92(3)	413-18	2010
©Konno Y, Toki T, Tandai S, Xu G, Wang RN, Terui K, Ohga S, Hara T, Hama A, Kojima S, Hasegawa D, Kosaka Y, Yanagisawa R, Koike K, Kanai R, Imai T, Hongo T, Park M-J, Sugita K, Ito E.	Mutations in the ribosomal protein genes in Japanese patients with Diamond-Blackfan Anemia.	Haematologica	95(8)	1293-9	2010
○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	116	4631-38	2010
Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishino 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 stem cell transplantation.	Blood	115(15)	3158-61	2010
Nishio N, Kojima S.	Recent progress in dyskeratosis congenita.	Int J Hematol.	92(3)	419-24	2010
Yamashita Y, Yuan J, Suetake I, Suzuki H, Ishikawa Y, Choi YL, Ueno T, Soda M, Hamada T, Haruta H, Takada S, Miyazaki Y, Kiyoi H, Ito E, Naoe T, Tomonaga M, Toyota M, Tajima S, Iwama A, Mano H.	Array-based genomic resequencing of human leukemia.	Oncogene			2010 [Epub ahead of print]

Aikawa Y, Katsumoto T, Zhang P, Shima H, Shino M, Terui K, Ito E, Ohno H, Stanley ER, Singh H, Tenen DG and Kitabayashi I.	PU.1-mediated upregulation on <i>CSF1R</i> is crucial for leukemia stem cell potentiation induced by MOZ-TIF2.	Nature Medicine	16(5)	580-585	2010
○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.		in press	2010
○Ishimura M, Ohga S, Ichiyama M, Kusuhara K, Takada H, Hara T, Takahashi M, Okamoto H.	Hepatitis-associated aplastic anemia during a primary infection of genotype la torque tenovirus.	Eur J Pediatr.	169(7)	899-902	2010
○Ohga S, Kudo K, Ishii E, Honjo S, Morimoto A, Osugi Y, Sawada A, Tabuchi T, Suzuki N, Ishida Y, Imashuku S, Kato S, Hara T.	Hematopoietic stem cell transplantation for familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan.	Pediatric Blood & Cancer	54(2)	299-306	2010
◎佐野弘純, 朴明子, 外松学, 今野友貴, 土岐力, 伊藤悦朗, 林泰秀.	[症例報告] 典型例とは異なる緩徐な臨床経過を示し, リボソームタンパク遺伝 <i>RPL11</i> の変異の検出により診断した Diamond-Blackfan 貧血の 1 例.	日本小児血液学会雑誌	24	225-228	2010



Kato K, Yoshimi A, Ito E, Oki K, Hara J, Nagatoshi Y, Kikuchi A, Kobayashi R, Nagamura-Inoue T, Kai S, Azuma H, Takanashi M, Isoyama K, Kato S; Japan Cord Blood Bank Network.	Cord blood transplantation from unrelated donors for children with acute lymphoblastic leukemia in Japan. the impact of methotrexate on clinical outcomes.	Biol Blood Marrow Transplant.	17(12)	1814-21	2011
©Kamio T, Ito E, Ohara S, Kosaka Y, Tsuchida M, Yagasaki H, Mugishima H, Yabe H, Morimoto A, Ohga S, Mutamatsu H, Hama A, Kaneko T, Nagasawa M, Kikura A, Osugi Y, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S.	Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group.	Haematologica	96(6)	814-9	2011
Kudo K, Terui K, Sasaki S, Kamio T, Sato T, Ito E.	CD7-positive acute myelomonocytic leukemia with tridomy 21 as a sole acquired chromosomal abnormality in two adolescents.	Leuk Res.	35(9)	e167-8	2011
Kitajima J, Inoue H, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Yoshida T, Kusuhara K, Hara T.	Differential transmission and postnatal outcome in triplets with congenital cytomegalovirus infection.	Pediatr Development Pathol.			2011 in press
Kiatjima J, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Hara T.	Serum Prohepcidin Concentrations at Birth and 1 Month After Birth in Premature Infants.	Pediatric Blood & Cancer	56(2)	267-72	2011
Tsuruta T, Aihara Y, Kanno H, Kiyotani C, Maebayashi K, Sakauchi M, Osawa M, Fujii H, Kubo O, Okada Y.	High-dose chemotherapy followed by autologous and allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for recurrent disseminated trilateral retinoblastoma.	Childs Nerv Syst.	27	1019-1024	2011

Tsuruta T, Aihara Y, Kanno H, Funase M, Murayama T, Osawa M, Fujii H, Kubo O, and Okada Y.	Shared Molecular Targets in Pediatric Gliomas and Ependymomas.	Pediatric Blood & Cancer	57	1117-1123	2011
Kanno H, Iribe Y, Aoki T, Ogura H, and Fujii H	Pyruvate supplementation enhances vascular endothelial growth factor production by bone marrow-derived mononuclear cells.	Jpn J Transf Cell Ther.	58(1)		2012
Kusuda T, Hikino S, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Takahata Y, Tokunaga S, Ihara K, Hata Y, Hara T.	Genetic variation of vascular endothelial growth factor pathway dose not correlate with the severity of retinopathy of prematurity.	J Perinatol.			2011 in press
○Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuki 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	117(10)	2887-90	2011
濱麻人, 小島勢二	小児骨髄不全の診断と治療のポイント	血液内科	63(2)	157-165	2011
北島順子, 金城唯宗, 大賀正一, 落合正行, 井上晋介, 楠田剛, 井原健二, 原寿郎	新生児における鉄恒常性とヘプシジン	産婦人科新生児血液学会雑誌	20	103-111	2011
斎藤加代子	小児科領域における研究と治療の進歩 - 遺伝子医療	東京女子医科大学雑誌	81	349-355	2011

<p>©Kuramitsu M, Sata-Otsubo A, Morio T, Terui K, Wang R, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I.</p>	<p>Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia.</p>	<p>Blood</p>	<p>119(10)</p>	<p>2376-2384</p>	<p>2012 in press</p>
<p>○Yokoyama T, Toki T, Aoki Y, Park MJ, Kanno Y, Tanaka T, Yamazaki Y, Ito E, Hayashi Y, Nakamura T.</p>	<p>Identification of <i>TRIB1</i> R107L gain-of-function mutation in human acute megakaryocytic leukemia.</p>	<p>Blood</p>	<p>119(11)</p>	<p>2608-2611</p>	<p>2012</p>

## V. 研究成果の刊行物・別冊

## Ribosomal protein と赤血球産生障害 (Diamond-Blackfan anemia と 5q 欠失症候群)

伊藤悦朗

Key words : Diamond-Blackfan anemia, 5q<sup>-</sup> syndrome, RPS19, RPS14, Ribosome

### 1. はじめに

Diamond-Blackfan anemia (DBA) は、乳児期に発症する赤血球造血のみが障害される先天性の赤芽球癆である。骨髓は正形成であるが赤血球系細胞のみが著減し、末梢血では網赤血球が減少し、大球性正色素性貧血を呈する。約 30% の症例で様々な奇形を合併することが知られている。大頭、小頭などの頭部、顔部の異常が最も多く、上肢、眼、泌尿生殖器系、心臓の異常や低身長が見られる。ほとんどが散発例であるが、約 10~20% の症例では家族歴があり、常染色体性優性あるいは劣性遺伝の形式をとる<sup>1)</sup>。

1936 年 Josephs により 2 例<sup>2)</sup>、2 年後には Diamond および Blackfan により congenital hypoplastic anemia として 4 例が報告<sup>3)</sup>されて以来、この疾患の病因に関する様々な研究が行われてきた。造血微小環境や支持細胞よりむしろ赤血球系造血前駆細胞自体の分化増殖能になんらかの heterogenous な異常が存在する可能性が高いと推定されていたが、長らく病因は不明であった。最近、染色体転座をもつ DBA 患者の遺伝子解析などから病因遺伝子の遺伝子座が第 19 番染色体長腕 (19q13) に同定され、さらにそこに存在する原因遺伝子が 80 個あるリボソームタンパクの一つである PRS19 をコードする遺伝子であることが明らかにされた<sup>4)</sup>。RPS19 遺伝子変異は約 25% の DBA 患者に認められるが、最近 RPS24, RPS17, RPL5, RPL11 および RPL35A の遺伝子変異が少数例の DBA で発見され、リボソームの異常に起因した新たな疾患「リボソーム病」の疾患概念が確立されつつある<sup>5)</sup>。

一方、5q 欠失症候群は、1974 年に初めて報告された

del(5q) の染色体異常と赤血球系細胞の分化障害を特徴とする骨髓異形成症候群の一つである<sup>6)</sup>。この疾患は、中年女性に好発し、大球性貧血、血小板増加、骨髓の芽球は 5% 未満、単核か低分葉小型巨核球が目立つことなどの特徴がある。多くは赤血球輸血依存性に陥るが、急性白血病への移行は比較的少ない。5q 欠失症候群の原因となるがん抑制遺伝子を見出すための長年の研究によって共通欠失領域ははだいに狭められた<sup>7,8)</sup>。その結果、最終的には原因遺伝子が 5q32 に位置する 1.5 Mb の範囲に存在する 40 個の遺伝子に絞られた<sup>9)</sup>。2008 年、Ebert らはこの領域に存在する 40 個の遺伝子を RNA 干渉法でスクリーニングし、本疾患の原因がやはりリボソームタンパクをコードする RPS14 遺伝子であることを明らかにした<sup>10)</sup>。この 2 つのまったく異なる疾患の研究成果によって、後天性血液疾患である 5q 欠失症候群と先天性血液疾患である DBA が共通の分子基盤によって生じていることが明らかになり、血液学に新たな研究領域が加わることになった。本稿では、これらの流れを踏まえ、リボソームタンパクの異常に起因する赤血球産生障害の病因研究の最近の進歩について概説する。

### 2. DBA の原因遺伝子の発見

1938 年、既に Diamond と Blackfan は DBA の原因が先天的な造血システムの異常であると推定していた。しかし、DBA の原因は 19 番染色体上の最初の DBA 遺伝子が見つかるまでは大きな謎であった。Gustavsson らは、相互転座 46, XX, t(X;19) (p21;q13) を持つ DBA 患者を見出した<sup>11)</sup>。19 番染色体の長腕上に DBA の原因遺伝子が存在する可能性が示唆されたため、DBA の 13 家系の連鎖解析を染色体 19q のマーカーを用いて行なった。その結果、19q13 に強い連鎖を認め<sup>12)</sup>、さらに 3 例の DBA 患者に 19q13 上の部分的に重なり合う microdele-

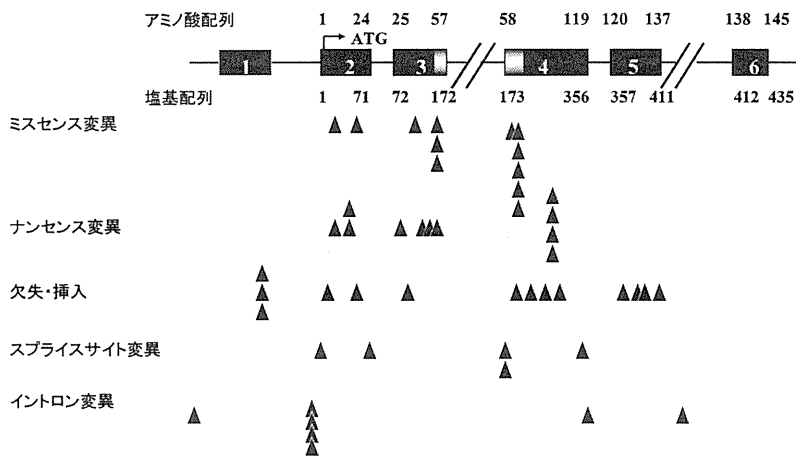


図1 RPS19 遺伝子の点変異の種類と位置 (文献14より改変)

RPS19 遺伝子は6個のエクソンから構成されている。エクソン1は、5'非翻訳領域に相当し、翻訳開始コードンはエクソン2に存在する。点突然変異の hot spot を黄色で示した。

tion を見出した<sup>13)</sup>。以上の結果より、DBA 病因遺伝子の遺伝子座が19q13に存在することが強く示唆されたため、上記の相互転座を持つDBA患者のDNAから、positional cloningの手法で原因遺伝子の同定が行なわれた。即ち、19q13上の転座切断点を含む領域をクローニングし、切断点がリボソームタンパク遺伝子RPS19の第3イントロンに存在することを明らかにした。さらに、40例のDBA症例を解析し、10例にRPS19遺伝子の変異を検出した<sup>4)</sup>。その後、大規模なスクリーニングが行なわれ、172家系のDBA症例が解析され、約25%の患者にRPS19遺伝子の変異が認められた<sup>14)</sup>。遺伝子の変異は、ミスセンス、ナンセンス、スプライスサイト、フレームシフト変異と様々であったが、全てヘテロ変異であった。遺伝子変異は広く遺伝子全体に散らばっていたが、変異のホットスポットがコードン52~62の間(エクソン3とエクソン4)に存在していた(図1)。しかし、遺伝子変異の性質と臨床症状との間にははっきりした関係は認められなかった。その後、欧米を中心にさらに解析が進められ、約20~25%のDBA症例にRPS19の遺伝子変異が見出された<sup>15, 16)</sup>。多くの症例の情報をもとに遺伝子変異の性質と臨床症状について検討され、19q13領域の広範な欠失は常に精神発達遅延を合併することが指摘された<sup>4, 16)</sup>。また、Arg62Trp変異を持つ患者は重症例が多く、9例中8例が輸血依存性であった。

1999年にRPS19遺伝子がDBAの原因遺伝子であることが報告されてから、Gazdaによって第2のDBAの原因遺伝子が同定されるまでに数年を要したが、その後、次々にRP遺伝子がDBAの原因遺伝子として同定された。GazdaらはAffymetrix社のGeneChip Human

Mapping 10 K Arrayを用いて、常染色体優性の遺伝形式をもつDBAの1家系のゲノム全体にわたる連鎖解析を行なった。その結果、染色体8qの17.5Mbの領域、染色体10の5.8 Mb及び染色体6の3.8 Mbの領域にDBAと連鎖を認めた<sup>17)</sup>。彼らは特定された領域に存在するリボソームタンパク遺伝子に注目し、RPS20とRPL7(染色体8q)とRPS24(染色体10q22-q23)のシーケンズ解析を行なった。その結果、RPS20とRPL7は正常であったが、RPS24にヘテロ変異を認めた。そこで、210名のDBA発端者の解析を行ない、さらに2名にRPS24に遺伝子変異を検出した。RPS24遺伝子変異の頻度は、約1.4%であった。また、Cmejlaらは別のリボソームタンパク遺伝子RPS17の変異をDBA症例で見出した<sup>18)</sup>。点変異(2T>G)のために翻訳開始コードン(ATG)が失われ、一方のRPS17の発現が失われる変異であった。

それまでの報告は、すべて小サブユニットを構成するリボソームタンパク遺伝子であったが、最近、大サブユニットを構成するリボソームタンパク遺伝子の変異も見出された。FarrarらはCGHによる高感度染色体マッピングとマイクロアレイによる発現解析を駆使して、染色体3qの欠失をもつ2例のDBA患者の解析から、DBAの原因候補遺伝子として大サブユニットを構成するリボソームタンパク遺伝子RPL35Aを同定した。そこで、RPL35Aの変異が本当にDBAで起こっているかどうかを知るために、148名のDBA発端者をスクリーニングし、3名にヘテロ変異を見出した<sup>19)</sup>。さらに、最近、Gazdaらは、DBAの症例に別の大サブユニットを構成するリボソームタンパク遺伝子の変異を見出した<sup>20)</sup>。彼女らは、これまでにRPS19、RPS24およびRPL35Aに

遺伝子変異のみられない 196 名の DBA 発端者の検体を用いて、遺伝子変異が報告されていない 24 個の RP 遺伝子と 1 例のみの報告があった *RPS17* 遺伝子の解析を行った。その結果、*RPL5* と *RPL11* にヘテロ変異を見出した。*RPL5* と *RPL11* の変異の頻度は、それぞれ 6.6% と 4.8% であった。また、その他にも *RPS7*, *RPS17*, *RPL36*, *RPS15*, *RPS27A* に変異をみとめたが、その頻度はいずれも 1% 未満であった。チェコの DBA registry には 31 名 (28 家族) の DBA 症例が登録されているが、この均一な population における *RPL5* および *RPL11* の遺伝子変異の頻度は、それぞれ 21.4% と 7.1% であった<sup>21)</sup>。興味あることに、*RPS19* 変異とは対照的に、*RPL5* 変異のある症例には口唇・口蓋裂、先天性心疾患や母指の異常などの多発奇形が、*RPL11* 変異では単独の母指異常が高頻度に認められた。

これまで発見された DBA の遺伝子変異は、すべてリボソームタンパク遺伝子のヘテロ変異であった。これは、DBA の原因がリボソームタンパクの haploinsufficiency によって生じるリボソームの機能不全であることを強く示唆している。

しかし、これまでの DBA の原因遺伝子の研究は、すべて海外で行われたのであり、本邦での大規模な解析の報告は無かった。我々はこれまでに 44 家系 (46 例) の DBA を解析し、6 家系 (7 例) に *RPS19* 遺伝子の変異を検出した (未発表)。また、*RPL5*, *RPL11* と *RPS17* の遺伝子変異を見出した。*RPS19* 変異の頻度は、13.6% と欧米に比してやや低い傾向がみられたが、全体像を把握するためにはさらに多くの症例の解析が必要と思われる。

### 3. リボソームタンパク遺伝子の異常とリボソーム生成の障害

リボソームは mRNA の翻訳を担う細胞内装置である。ヒトリボソームは 4 種類の RNA と 80 種類のリボソームタンパク質からなる巨大な複合体であり、その基本的構造は酵母や細菌にいたるまで全ての生物でたいへん良く保存されている<sup>5)</sup>。ヒトを含めたほ乳類のリボソーム (80S) は、大サブユニット (60S) と小サブユニット (40S) から成り、それぞれのサブユニットはリボソーム RNA (rRNA) とリボソームタンパク質で構成されている (図 2)。ほ乳類のリボソームは 80 個のリボソームタンパク質を含んでいるが、mRNA を polypeptide に翻訳する触媒反応は RNA が担っている<sup>22)</sup>。したがって、リボソームタンパク質は pre-rRNA のプロセッシング、リボソームの組み立てや安定化、細胞内輸送および翻訳効率の向上や制御などリボソーム機能を改善するために、進化の過程で RNA の骨組みに付け加えられたと考

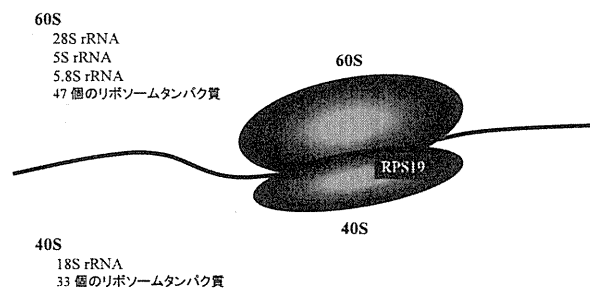


図 2 ヒトリボソームの構造

ヒトを含む高等動物のリボソームは、4つのリボソーム RNA (rRNA) と 80 種類のリボソームタンパク質からなる巨大な複合体である。完全なリボソーム (80S) は、大サブユニット (60S) と小サブユニット (40S) から成り、mRNA の polypeptide への翻訳を司っている。18S rRNA は 40S 小サブユニットの構成要素であり、28S, 5S と 5.8S rRNA は 60S 大サブユニットの構成要素である。60S と 40S を構成するリボソームタンパク質は RPL, RPS とそれぞれ呼ばれ、RPS19 は 40S を構成するリボソームタンパク質の一つである。

えられる。RPS19 は、18S rRNA とともにリボソームの 40S 小サブユニットを形成する 33 個のリボソームタンパク質の一つである。

Da Costa らは、RPS19 は、リボソームが生成される核小体に最も高濃度に存在することを見出した<sup>23)</sup>。彼らは、さらに RPS19 の N 末端の 15 個のアミノ酸と C 末端の 22 個のアミノ酸に核小体局在シグナル (Nos) があることを同定した。重要なことに、RPS19 の Nos にミスセンス変異をもつ DBA 患者では核小体への RPS19 の局在が不良となり、変異 RPS19 タンパクが著明に低下していた。

最近、RPS19 が 18S rRNA の成熟と 40S リボソームサブユニットの組み立てに重要な役割を果たしていることが 3 つのグループから報告された<sup>24~26)</sup>。RPS19 を欠損した酵母細胞やヒトの子宮頸がん由来の HeLa 細胞では、不完全なプロセッシングを受けた 18S rRNA を含む 40S リボソームサブユニットの前駆体が核に蓄積し、細胞質では成熟した 40S リボソームサブユニットの減少がみられた<sup>24, 25)</sup>。18S rRNA 成熟と 40S 小サブユニット合成の同様の障害は、RPS19 を欠損させたヒト造血前駆細胞株 TF-1 や *RPS19* 変異を有する DBA 患者の骨髄から純化された CD34<sup>-</sup>細胞でも認められた。しかし、この異常は、意外なことに *RPS19* 変異陽性 DBA 患者の骨髄 CD34<sup>+</sup>細胞では CD34<sup>-</sup>細胞に比して軽度であった<sup>26)</sup>。ヒトの細胞における 18S rRNA の 3' end の成熟は、多段階的に起る。まず、internal transcribed spacer 1 (ITS1) 上の site 2 で切断が起こり、次に site E、そして最後に site 3 で切断され、成熟した 18S rRNA の

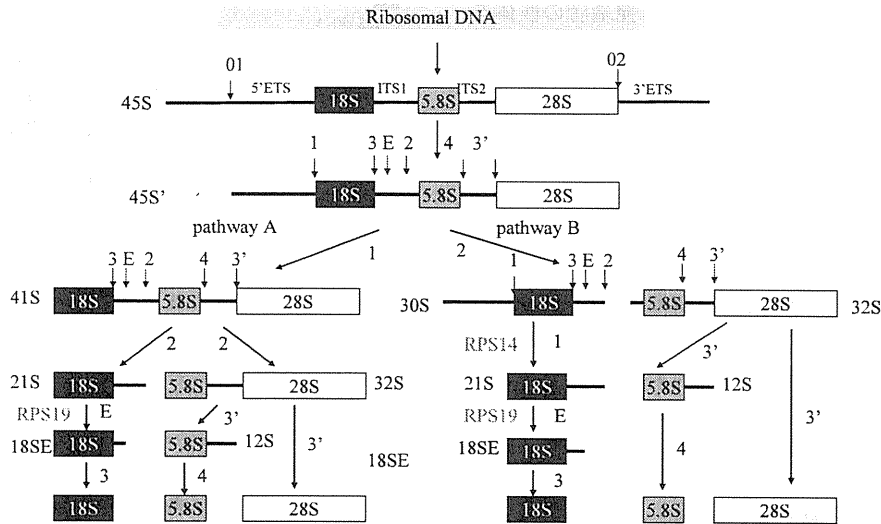


図3 Pre-rRNAのプロセッシングにおけるRPS19とRPS14の機能

成熟した18S, 5.8S, 28S rRNAの塩基配列は、45S転写産物の中で external transcribed spacer (5'-ETSと3'-ETS)が両側面に位置し、 internal transcribed spacer (ITS1とITS2)によって隔てられている。45S'に切断点を記載した。最初に5'-ETS上のsite 1でプロセッシングされる pathway AとITS1上のsite 2でプロセッシングされる pathway Bの2つの経路がある。ヒトの細胞における18S rRNAの3' endの成熟は、多段階的に起る。Pathway Aでは、まず、ITS1上のsite 2で開裂が起こり、次にsite E、そして最後にsite 3で切断され、成熟した18S rRNAの3' endが完成する。RPS19とRPS14の推定される機能を図中に記載した。矢印は cleavage siteを示す。

3' endが完成する(図3)。RPS19を欠損させたTF-1細胞では、18S rRNAの成熟障害が生じ、より大きな21S rRNA前駆体が細胞に蓄積するのが観察された。これは、RPS19がsite Eの効率的な切断に不可欠であることを示唆している。この18S rRNA成熟の最終過程は、40Sリボソームの完成と翻訳開始に不可欠である。したがって、RPS19欠損細胞は、相対的な40Sリボソームの欠乏を招き、翻訳開始能の低下を引き起こすと考えられる。RPS24とRPS7も18S rRNAの成熟と40Sリボソームの産生に不可欠であることが示された<sup>20,27)</sup>。しかし、RPS19はITS1の成熟に関わっているのに対して、RPS24とRPS7は5' external transcribed spacer (5'-ETS)のプロセッシングに必要であった。RPS24あるいはRPS7をノックダウンした細胞では、45Sと30S rRNA前駆体が蓄積し、41S, 21Sと18S-E rRNA前駆体が著しく減少していることが観察された。

一方、大サブユニットを構成するリボソームタンパクであるRPL35A, RPL5とRPL11は、28Sと5.8S rRNAの成熟と60Sリボソームサブユニットの組み立てに重要な役割を果たしていることが明らかにされた<sup>19,20)</sup>。いずれかの分子をノックダウンしたヒト培養細胞では、60Sリボソームの合成に不可欠な28S rRNAと5.8S

rRNAの成熟障害が起こり、より大きなそれぞれの前駆体である32S rRNAと12S rRNAが細胞に蓄積されるのが観察された。

#### 4. RPS19変異によるDBA発症の分子機構

赤血球は骨髄内で造血幹細胞から絶えず生み出されている。CD34<sup>+</sup>造血前駆細胞は、赤血球造血の過程でCD71<sup>+</sup>, glycophorin A (GlyA)<sup>+</sup>の赤芽球、さらにCD71<sup>-</sup>, GlyA<sup>+</sup>の赤血球へと分化するが、BFU-Eの分化段階からエリスロポエチン(EPO)依存性となる。Ohene-Abuakwaらは2段階赤血球系液体培養を用いて、DBAにおける赤血球造血の異常はEPOに依存する赤血球分化の最終段階にあることを示した。彼らはDBAと健常人の末梢血単核球を解析し、EPO非依存の第一段階の培養では両者に差は認められないが、EPO依存系の第二段階培養ではDBA患者単核球からの同期した赤芽球の増生と最終分化がみられないことを報告した<sup>28)</sup>。興味深いことに、リボソーム合成は未分化な前駆細胞で低く、グロビン合成の活発な成熟した赤芽球では非常に高くなるが、逆にRPS19の発現は赤血球の最終分化の過程で減少し40Sリボソーム合成が低下する(図4)<sup>30,31)</sup>。FlygareとKarlssonは、DBAではRPS19の変



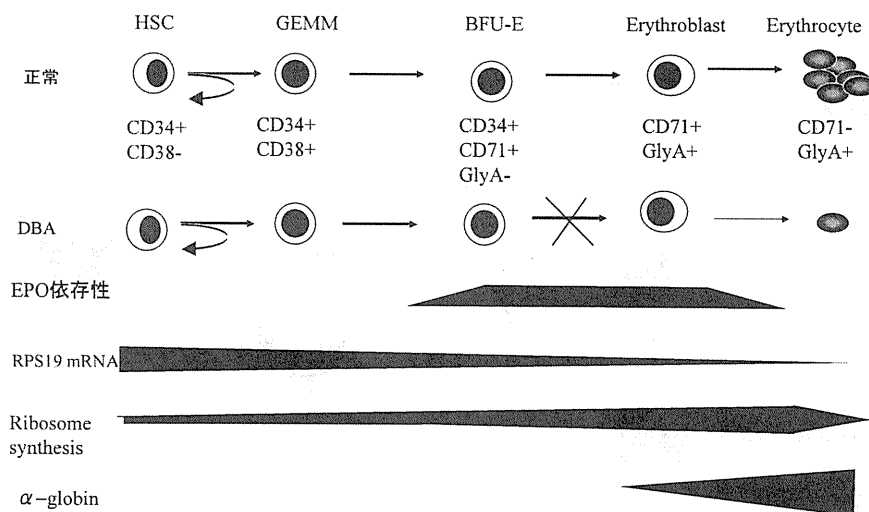


図4 正常とDBA患者における赤芽球分化

赤血球は骨髓内で造血幹細胞から絶えず生み出されている。CD34<sup>+</sup>造血前駆細胞は、赤血球造血の過程でCD71<sup>+</sup>、glycophorin A (GlyA)<sup>+</sup>の赤芽球、さらにCD71<sup>-</sup>、GlyA<sup>+</sup>の赤血球へと分化するが、BFU-Eの分化段階からエリスロポエチン (EPO) 依存性となる。DBAにおける赤血球造血の異常は、EPOに依存する赤血球分化の最終段階 (BFU-Eの段階の後)にある。リボソーム合成は未分化な前駆細胞で低く、グロビン合成の活発な成熟した赤芽球では非常に高くなるが、逆にRPS19の発現は赤血球の最終分化の過程で減少し40Sリボソーム合成が低下する。

異により40Sリボソーム合成障害が起るので、40S/60S比が最も低くなる赤血球最終分化段階において相対的な40Sリボソームの欠乏が最も顕著になり、この結果、赤芽球は大量のグロビンなどの翻訳が充分できなくなるために赤血球造血がこの段階で停止すると推定している。

しかし、赤芽球造血の異常以外の臨床症状が、どのような仕組みで起っているかはまだ明らかではない。その理解のためには、RPS19の機能をさらに知る必要がある。RPS19は、RPS3a、RPS13/16やRPS24と近接して40Sサブユニットの外表面に存在する。ヒトのRPS19 mRNAは、145個のアミノ酸をコードしているが、N末端のメチオニンは翻訳後に除去され、アミノ酸144個のタンパクとなる<sup>31)</sup>。生理的な条件では証明されていないが、Flygareらは少なくとも7箇所のリン酸化を受ける部位が存在すると予想している<sup>29)</sup>。RPS19には、複数のRPS19結合タンパクが同定されている (図5)<sup>29)</sup>。その中でも、特にproto-oncogeneであるserine-threonine kinase PIM-1は興味深い分子である。PIM-1ノックアウトマウスは、赤血球のサイズが縮小し、逆にトランスジェニックマウスではMCVが増大する<sup>32)</sup>。PIM-1はEPOにより発現が誘導され、リボソーム上でRPS19と結合すると、RPS19をリン酸化する<sup>33)</sup>。DBAの変異のホットスポットであるRPS19のコードン52~62は、極めて保存性の高い領域であり、予想されるリン酸化site

が存在する。したがって、PIM-1によるRPS19のリン酸化はリボソームの翻訳効率の制御などに重要な役割を果たしている可能性がある。また、興味深いことに、DBAの患者に見られた変異RPS19は、正常とは異なった親和性でPIM-1と結合したことから、発がんとの関連にも興味を持たれる<sup>33)</sup>。

RPS19は二量体を形成し、単球に対して走化性因子として機能することが示されており、リボソーム以外での機能も持つと考えられる<sup>34)</sup>。しかし、RPS19のリボソーム以外での機能がDBAの病態に関与するかどうかは不明である。

## 5. 5q欠失症候群の原因遺伝子の発見

1974年に5q欠失症候群が初めて報告されて以来、今日まで、その原因解明に向けて多数のグループによって研究が展開されてきた。これまでに5qに存在する多くの癌抑制遺伝子が責任遺伝子の候補にあがり、対立遺伝子の欠失や不活化が解析されてきたが、いずれも広く容認されるには至らなかった<sup>35, 36)</sup>。一方、Boultonwoodらは5q欠失症候群でみられる共通欠失領域をFISHやphysical mappingによって狭める戦略で原因遺伝子の同定を目指してきた<sup>7~9)</sup>。その結果、共通欠失領域は、最終的に5q32のD5S413~GLRA1の1.5 Mbの領域に狭められ、原因遺伝子はこの領域に存在する40個の遺伝

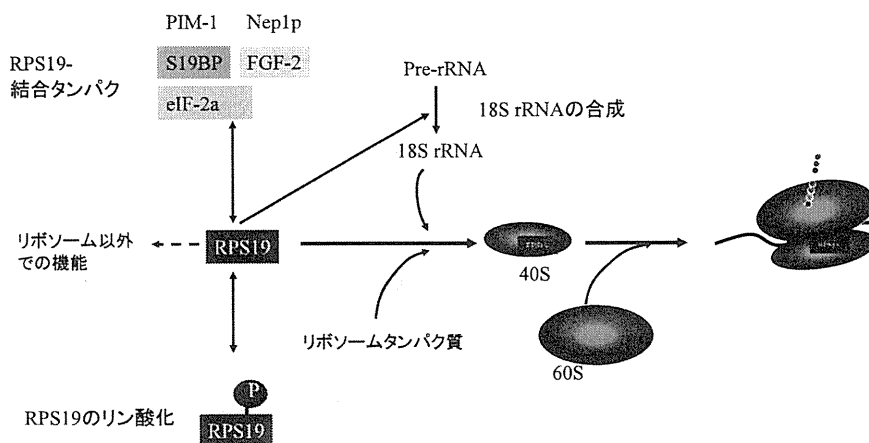


図5 RPS19の機能 (文献29より改変)

RPS19には、複数のRPS19結合タンパクが同定されている。少なくとも7箇所のリン酸化を受ける部位が存在すると予想される。RPS19は、18S rRNAの成熟と40S小サブユニットの合成に不可欠である。

子に絞られた<sup>9)</sup>。しかし、残ったアレル上の遺伝子に点変異が見つかったという報告は無く、共通欠失領域が両アレルとも欠失した5q欠失症候群の患者は報告されていなかった。

そこで、Ebertらは、5q欠失症候群はこの40個のいずれかの遺伝子のhaploinsufficiencyによって生じると考え、責任遺伝子を同定するための新たな方法を選択した<sup>10)</sup>。即ち、共通欠失領域の遺伝子を標的とするshRNAを用いて、5q欠失症候群の最も本質的な特徴『巨核球の分化障害を伴わない赤血球の成熟障害』を実験的に再現できるかを指標に責任遺伝子の同定を試みた。それぞれの遺伝子に対する複数のshRNAをレンチウイルスベクターで正常のヒト臍帯血由来のCD34陽性造血前駆細胞に発現させ、標的遺伝子の発現を抑制した状態で赤血球と巨核球系に分化を誘導した。FACSを用いてCD41とGlyA陽性細胞を測定することによって巨核球/赤芽球の比率を測定したところ、RPS14をノックダウンした場合にのみ、巨核球/赤芽球の比率が有意に増加することが判明した。さらに、5q欠失症候群の患者から得られたCD34陽性骨髄細胞にレンチウイルスベクターでRPS14を過剰発現させると、赤血球分化が回復することが明らかになった。また、RPS14の発現を抑えたTF-1細胞では18S rRNAの成熟障害が生じ、30S rRNA前駆体の蓄積と21S・18SE rRNA前駆体および成熟した18S rRNAの欠乏が観察された。さらに、RPS14のノックダウンは、40S小サブユニットの欠乏を招くことも明らかになった。5q欠失症候群と非常に類似した臨床症状を呈するDBAにも、RPS19などのリボソームタンパク遺伝子の変異がみられ、18S rRNAのプロセッ

シングの異常が認められることから、RPS14が5q欠失症候群の原因遺伝子であることが強く示唆される。しかし、RPS14の機能喪失は赤血球分化障害を引き起こすのに十分であると思われるが、RPS14の欠失したクローンが正常細胞より優位に増殖し、悪性化して急性骨髄性白血病に進展するためには、付加的な遺伝子異常が必要であると考えられる。その候補として最近報告された2つの遺伝子(EGR1とCTNNA1)が有力である<sup>37, 38)</sup>。これらの遺伝子は、5q欠失を有する治療関連や高リスクMDSおよびAMLの共通欠失領域に存在する9個の遺伝子の中に含まれている<sup>39)</sup>。この領域は5q上のよりセントロメア側が存在していて、5q欠失症候群の共通欠失領域とは重複していない。しかし、ほとんどの患者は5qの大きな領域が欠失しているため、RPS14の欠失と同時にこれらの遺伝子の欠失が生じる可能性がある。

## 6. リボソームの異常に起因した疾患群

DBAと5q欠失症候群は、リボソームタンパクの欠損によって起るヒトの疾患である。しかし、一群の先天性骨髄不全症(dyskeratosis congenita (DKC), cartilage-hair hypoplasia (CHH), Shwachman-Diamond症候群(SDS))の原因遺伝子産物も全てリボソーム合成に関与していると考えられている(図6)<sup>5, 40)</sup>。これらの疾患は、骨髄不全の他に先天奇形や発がん素因を共有している。

SDSは、好中球減少症、膵外分泌能の低下、骨格の異常や白血病の高発症などを特徴とする疾患である。原因遺伝子SBDSの産物は、核小体に局在するタンパクをコードし、リボソーム合成に関与していると考えられ

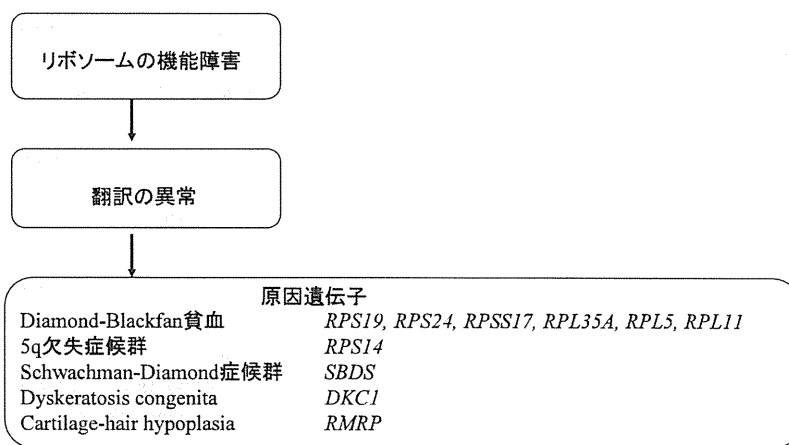


図6 リボソームの機能異常によって起る疾患：リボソーム病

DBAと5q欠失症候群は、リボソームタンパクの欠損によって起るヒトの疾患である。一群の先天性骨髄不全症（dyskeratosis congenita, cartilage-hair hypoplasia, Schwachman-Diamond症候群）の原因遺伝子産物も全てリボソーム合成に関与していると考えられている。これらの疾患は、骨髄不全の他に先天奇形や発がん素因を共有している。

ている<sup>41, 42)</sup>。

DKCは皮膚の網状色素沈着、爪の萎縮、粘膜の白斑を特徴とし、骨髄不全も高頻度に合併する先天性疾患である。遺伝形式により、X連鎖劣性、常染色体性優性および常染色体性劣性の3つのタイプが知られているが、最も多いX連鎖型DKCの原因遺伝子*DKC1*の産物dyskeratinは、rRNAの成熟とテロメレーズのRNA成分の安定化に関与している。リボソーム合成の障害とテロメレーズ活性の低下の両者がDKCの病態に関与していると考えられている<sup>38)</sup>。

CHHは、骨格の形成異常による低身長、毛髪の低形成、リンパ球減少、貧血と発がん素因を特徴とする疾患である。原因遺伝子*RMRP*の変異によって、rRNAのプロセッシングが障害されリボソームの合成が障害されるが、mRNAの代謝回転やミトコンドリアDNAの複製も障害されて複雑な病態が形成されると考えられる<sup>38)</sup>。

## 7. むすび

Blackfan-Diamond Anemiaと5q欠失症候群の病因研究の進歩について述べた。最近の研究は、リボソームの機能障害のために生じる翻訳の異常がDBAや5q欠失症候群の赤血球造血の障害を引き起こす中心的なメカニズムであることを明らかにした。後天性血液疾患である5q欠失症候群と先天性血液疾患であるDBAが共通の分子基盤によって生じていることが明らかになり、血液学に新たな研究領域が加わることになった。しかし、まだ50%以上のDBAの症例の原因遺伝子は不明であり、5q欠失症候群の原因が完全に解明された訳ではない。小児

に発症する先天性骨髄不全症候群の研究が、骨髄異形成症候群などの成人にみられる血液疾患の病因解明に大きな手がかりを与えられると思われる。今後、「リボソーム病」の病因究明が急速に進み、これらの疾患に対する新たな治療法の開発に繋がることが期待される。

## 文 献

- 1) Da Costa L, Willig TN, Fixler J, Mohandas N, Tchernia G. Diamond-Blackfan anemia. *Curr Opin Pediatr*. 2001; **13**: 10-15.
- 2) Josephs HW. Anaemia of infancy and early childhood. *Medicine*. 1936; **15**: 307.
- 3) Diamond LK, Blackfan KD. Hypoplastic anemia. *Am J Dis Child*. 1938; **56**: 464-67.
- 4) Draptchinskaia N, Gustavsson P, Andersson B, et al. The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nat Genet*. 1999; **21**: 169-175.
- 5) 剣持直哉. リボソームと疾患. *実験医*. 2004; **22**: 2550-2555.
- 6) Van den Berghe H, Cassiman JJ, David G, Fryns JP, Michaux JL, Sokal G. Distinct haematological disorder with deletion of long arm of no. 5 chromosome. *Nature*. 1974; **251**: 437-438.
- 7) Boultonwood J, Fidler C, Lewis S, et al. Molecular mapping of uncharacteristically small 5q deletions in two patients with the 5q-syndrome: delineation of the critical region on 5q and identification of a 5q-breakpoint. *Genomics*. 1994; **19**: 425-432.
- 8) Jaju RJ, Boultonwood J, Oliver FJ, et al. Molecular cytogenetic delineation of the critical deleted region in the 5q-syndrome. *Genes Chromosomes Cancer*. 1998; **22**: 251-256.
- 9) Boultonwood J, Fidler C, Strickson AJ, et al. Narrowing and

- genomic annotation of the commonly deleted region of the 5q-syndrome. *Blood*. 2002; **99**: 4638-4641.
- 10) Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. Identification of RPS14 as a 5q-syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008; **451**: 335-339.
  - 11) Gustavsson P, Skeppner G, Johansson B, et al. Diamond-Blackfan anaemia in a girl with a *de novo* balanced reciprocal X; 19 translocation. *J Med Genet*. 1997; **34**: 779-82.
  - 12) Gustavsson P, Willig TN, van Haeringen A, et al. Diamond-Blackfan anaemia: genetic homogeneity for a gene on chromosome 19q13 restricted to 1.8 Mb. *Nat Genet*. 1997; **16**: 368-371.
  - 13) Gustavsson P, Garelli E, Draptchinskaia N, et al. Identification of microdeletions spanning the Diamond-Blackfan anemia locus on 19q13 and evidence for genetic heterogeneity. *Am J Hum Genet*. 1998; **63**: 1388-1395.
  - 14) Willig TN, Draptchinskaia N, Dianzani I, et al. Mutations in ribosomal protein S19 gene and diamond blackfan anemia: wide variations in phenotypic expression. *Blood*. 1999; **94**: 4294-4306.
  - 15) Ramenghi U, Garelli E, Valtolina S, et al. Diamond-Blackfan anaemia in the Italian population. *Br J Haematol*. 1999; **104**: 841-848.
  - 6) Campagnoli MF, Garelli E, Quarello P, et al. Molecular basis of Diamond-Blackfan anemia: new findings from the Italian registry and a review of the literature. *Haematologica*. 2004; **89**: 480-489.
  - 17) Gazda HT, Grabowska A, Merida-Long LB, et al. Ribosomal protein S24 gene is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Am J Hum Genet*. 2006; **79**: 1110-1118.
  - 18) Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, Petrak J, Pospisilova D. Ribosomal protein S17 gene (RPS17) is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat*. 2007; **28**: 1178-1182.
  - 19) Farrar JE, Nater M, Caywood E, et al. Abnormalities of the large ribosomal subunit protein, Rpl35a, in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2008; **112**: 1582-1592.
  - 20) Gazda HT, Sheen MR, Vlachos A, et al. Ribosomal protein L5 and L11 mutations are associated with cleft palate and abnormal thumbs in Diamond-Blackfan anemia patients. *Am J Hum Genet*. 2008; **83**: 769-780.
  - 21) Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, et al. Identification of mutations in the ribosomal protein L5 (RPL5) and ribosomal protein L11 (RPL11) genes in Czech patients with Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat*. 2009; **30**: 321-327.
  - 22) Nissen P, Hansen J, Ban N, Moore PB, Steitz TA. The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis. *Science*. 2000; **289**: 920-930.
  - 23) Da Costa L, Tchernia G, Gascard P, et al. Nucleolar localization of RPS19 protein in normal cells and mislocalization due to mutations in the nucleolar localization signals in 2 Diamond-Blackfan anemia patients: potential insights into pathophysiology. *Blood*. 2003; **101**: 5039-5045.
  - 24) Léger-Silvestre I, Caffrey JM, Dawaliby R, et al. Specific Role for Yeast Homologs of the Diamond Blackfan Anemia-associated Rps19 Protein in Ribosome Synthesis. *J Biol Chem*. 2005; **280**: 38177-38185.
  - 25) Choemsel V, Bacqueville D, Rouquette J, et al. Impaired ribosome biogenesis in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2007; **109**: 1275-1283.
  - 26) Flygare J, Aspesi A, Bailey JC, et al. Human RPS19, the gene mutated in Diamond-Blackfan anemia, encodes a ribosomal protein required for the maturation of 40S ribosomal subunits. *Blood*. 2007; **109**: 980-986.
  - 27) Choemsel V, Fribourg S, Aguisa-Touré AH, et al. Mutation of ribosomal protein RPS24 in Diamond-Blackfan anemia results in a ribosome biogenesis disorder. *Hum Mol Genet*. 2008; **17**: 1253-1263.
  - 28) Ohene-Abuakwa Y, Orfali KA, Marius C, Bal SE. Two-phase culture in Diamond Blackfan anemia: localization of erythroid defect. *Blood*. 2005; **105**: 838-846.
  - 29) Flygare J, Karlsson S. Diamond-Blackfan anemia: erythropoiesis lost in translation. *Blood*. 2007; **109**: 3152-3154.
  - 30) Da Costa L, Narla G, Willig TN, et al. Ribosomal protein S19 expression during erythroid differentiation. *Blood*. 2003; **101**: 318-324.
  - 31) Vladimirov SN, Ivanov AV, Karpova GG, et al. Characterization of the human small-ribosomal-subunit proteins by N-terminal and internal sequencing, and mass spectrometry. *Eur J Biochem*. 1996; **239**: 144-149.
  - 32) Laird PW, van der Lugt NM, Clarke A, et al. *In vivo* analysis of Pim-1 deficiency. *Nucleic Acids Res*. 1993; **21**: 4750-4755.
  - 33) Chiochetti A, Gibello L, Carando A, et al. Interactions between RPS19, mutated in Diamond-Blackfan anemia, and the PIM-1 oncoprotein. *Haematologica*. 2005; **90**: 1453-1462.
  - 34) Revollo I, Nishiura H, Shibuya Y, Oda Y, Nishino N, Yamamoto T. Agonist and antagonist dual effect of the cross-linked S19 ribosomal protein dimer in the C5a receptor-mediated respiratory burst reaction of phagocytic leukocytes. *Inflamm Res*. 2005; **54**: 82-90.
  - 35) Harada H, Kondo T, Ogawa S, et al. Accelerated exon skipping of IRF-1 mRNA in human myelodysplasia/leukemia; a possible mechanism of tumor suppressor inactivation. *Oncogene*. 1994; **9**: 3313-3320.
  - 36) Borkhardt A, Bojesen S, Haas OA, et al. The human GRAF gene is fused to MLL in a unique t(5;11)(q31;q23) and both alleles are disrupted in three cases of myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia with a deletion 5q. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; **97**: 9168-9173.
  - 37) Joslin JM, Fernald AA, Tennant TR, et al. Haploinsufficiency of EGR1, a candidate gene in the del(5q), leads to the development of myeloid disorders. *Blood*. 2007; **110**: 719-726.
  - 38) Liu TX, Becker MW, Jelinek J, et al. Chromosome 5q deletion and epigenetic suppression of the gene encoding  $\alpha$ -catenin