
先天性造血不全シンポジウム

抄録集

2011年2月5日(土) 13:00~17:30

ホテルサンルートプラザ東京 2階ローズルーム

主催：東京医科歯科大学小児科 水谷修紀
聖路加国際病院小児科 真部 淳

ごあいさつ

みなさま、こんにちは。

本日はお忙しい中、先天性造血不全シンポジウムにご参加いただき、まことにありがとうございます。小児において血球減少を来す疾患は、再生不良性貧血や骨髄異形成症候群などさまざまですが、先天性造血不全も無視できないことがわかってきました。また、それらの疾患の多くにおいて責任遺伝子が同定されてきました。そのような中、平成21年度に先天性疾患を扱う厚労省の研究班が多数誕生しました。この機運に乗じ、今回、先天性造血不全とその周縁疾患の主任研究者が一堂に会して各分野の研究成果を発表していただく機会を設けることにいたしました。皆様には活発なご討論をしていただけますよう期待しますとともに、会の運営等につきましても忌憚のないご意見を頂戴できればと思っております。なお、このシンポジウムは、班研究の老舗とも言われる特発性造血障害に関する調査研究（小澤班）の活動と連動しております。今回は非公開で行いますが、このシンポジウムが成功しました暁には、今度は公開シンポジウムを企画したく存じますので、みなさまのご協力をお願いいたします。

東京医科歯科大学小児科 水谷修紀
聖路加国際病院小児科 真部 淳

プログラム

第1部 座長：水谷修紀（東京医科歯科大学小児科）

- 13：00～13：20 1. 遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類と治療法の確立
大場理恵、張替秀郎（東北大学血液免疫科）
- 13：20～13：40 2. 先天性巨大血小板性血小板減少症
國島伸治（名古屋医療センター臨床研究センター高度診断研究部）
- 13：40～14：00 3. リバージョン・モザイク型 Fanconi 貧血の診断と臨床
矢部みはる、矢部普正（東海大学医学部細胞移植科）
- 14：00～14：20 4. 造血不全症における血球テロメア長の測定意義
坂口大俊（名古屋大学小児科）
- 14：20～14：40 5. Shwachman-Diamond 症候群の病態
渡邊健一郎（京都大学大学院発達小児科学）
- 14：40～15：00 6. サラセミア疾患の胎児診断に向けての母体血中有核赤血球の分離・
同定法（レクチン法）の最適化
大坂享史（国立成育医療センター研究所周産期病態研究部）

15：00～15：20 コーヒーブレイク

第2部 座長：真部 淳（聖路加国際病院小児科）

- 15：20～15：30 来賓あいさつ 鈴木隆浩（自治医科大学血液内科）
- 15：30～15：50 7. 重症先天性好中球減少症（Severe congenital neutropenia, SCN）
中村和洋（広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学）
- 15：50～16：10 8. Ataxia Telangiectasia と細胞分化、腫瘍化の関連
高木正稔（東京医科歯科大学大学院発生発達病態学）
- 16：10～16：30 9. 先天性赤芽球癆（Diamond Blackfan 貧血）の効果的診断法の確立に
関する研究
伊藤悦朗（弘前大学小児科）
- 16：30～16：50 10. 本邦における Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) の責任
遺伝子の解析
土居崎小夜子（名古屋大学小児科）、神谷尚宏（聖路加国際病院）
- 16：50～17：10 11. 先天性顆粒放出異常症
石井栄一（愛媛大学大学院小児医学）
- 17：10～17：30 12. i P S 細胞を用いた、先天性造血不全疾患の解析への取り組み
丹羽 明（京都大学 i P S 細胞研究所）

遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類と治療法の確立

○大場理恵、張替秀郎

東北大学血液免疫科

遺伝性鉄芽球性貧血は骨髄における環状鉄芽球の出現を特徴とする難治性の貧血であり、ミトコンドリアにおける鉄の代謝・輸送、ヘム合成に関わる遺伝子の変異により発症する。鉄芽球性貧血は、遺伝性鉄芽球性貧血と、骨髄異形成症候群(MDS)およびアルコールや薬剤による二次性鉄芽球性貧血からなる後天性鉄芽球性貧血に大別される。遺伝性鉄芽球性貧血のうち最も解析が進んでいる鉄芽球性貧血は、赤血球におけるヘム合成系の初発酵素である赤血球型 5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS-E; ALAS-2)の変異による X連鎖性鉄芽球性貧血(XLSA)であり、成人発症例も存在することが見出されている。遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子として、ALAS2 以外にもミトコンドリアでのヘム合成・鉄代謝に関わる遺伝子の変異が報告されており、その病態は多様であると考えられるが、これまでに鉄芽球性貧血の疫学調査がなされたことはなく、その実態は不明である。

そこで、「遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類と治療法の確立」班では、まず、日本における鉄芽球性貧血の実態を調査し、その中で遺伝性鉄芽球性貧血が疑われる症例について原因遺伝子の変異解析を行い、その病態を明らかにするというステップを踏んで研究を進めている。これまでに予備調査として 299 例の鉄芽球性貧血が確認された。これら症例のうち、一次調査にて、134 例の臨床情報が得られている。遺伝性鉄芽球性貧血と考えられる症例が 17 例、MDS-RARS が 40 例、MDS-RCMD が 68 例、MDS-RAEB が 9 例であった。これらの症例のうち、遺伝性鉄芽球性貧血と考えられる症例で、遺伝子検査が未施行の症例と臨床上、RARS ではあるが、染色体異常がなく異形成に乏しい症例と合わせて、14 例で新たに遺伝子解析を施行した。うち 2 例で ALAS2 の遺伝子変異を認め、現在までに合計 8 症例で ALAS2 遺伝子の変異を確認している。現時点では ALAS2 以外の変異は認められていないが、今後、新規遺伝子の同定も含め継続して解析を進めていく予定である。

先天性巨大血小板性血小板減少症

國島伸治

国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター高度診断研究部

日常診療において血小板減少症に遭遇することは少なくない。多くの場合は後天的要因によるものであり、先天性血小板減少症はきわめてまれと考えられてきた。近年になり、先天性血小板減少症は従来考えられていた程まれでなく、特発性血小板減少性紫斑病と診断され不必要な治療を受ける症例が少なくないことも判ってきた。先天性血小板減少症は遺伝的異質性が高く、多くの症例では病因を特定できない。しかし、巨大血小板を呈する先天性巨大血小板症は、病因・病態解明および検査診断において研究が進みつつある。最も代表的な Bernard-Soulier 症候群(BSS)は、GPIb/IX 欠損が原因であり、症例解析の集積により GPIb/IX 生合成過程が明らかにされた。一世紀も前に報告されながらも最近まで原因が不明であった巨大血小板、血小板減少、顆粒球封入体を呈する May-Hegglin 異常は、ポジショナルクローニングにより原因遺伝子として非筋ミオシン重鎖 IIA をコードする MYH9 が同定された。MYH9 異常は May-Hegglin 異常に加え、Alport 症状を合併する Epstein 症候群や Fechtner 症候群の原因であることも判り、包括した MYH9 異常症が提唱されている。巨核球は骨髄内において分化・成熟するに従い類洞周囲に集族し、伸展させた胞体突起の先端を血小板として放出する。ミオシン IIA は胞体突起形成を負に制御することが明らかにされ、MYH9 異常症では巨核球が十分に分化・成熟する以前に胞体突起が形成されるために、大型の血小板として産生されることが示唆されている。胞体突起形成は微小管により伸展されるが、巨核球特異的チューブリン異常も先天性巨大血小板症の原因となる。血小板 GPIIb/IIIa の先天性欠損は血小板無力症の原因であることは良く知られているが、血小板の数と大きさは正常である。最近、静止期の GPIIb/IIIa 構造維持に重要な部位の異常が先天性巨大血小板症と関連する事が判った。恒常的活性化型 GPIIb/IIIa は巨核球の胞体突起形成に異常を来し、胞体突起先端数の減少と大型化により巨大血小板症の原因となることが解明された。以上、先天性巨大血小板性血小板減少症の病因・病態解析と鑑別診断について概説させていただきます。

リバージョン・モザイク型 Fanconi 貧血の診断と臨床

○矢部みはる、矢部普正

東海大学医学部細胞移植科

【緒言】 Fanconi 貧血 (FA) は染色体不安定性と進行性骨髄不全、白血化を特徴とする常染色体劣勢遺伝性疾患で *FANCA* から 2010 年 FA 国際シンポジウムで認められた *FANCO* になる 14 個という多数の遺伝子が報告されている。FA 患者の中には遺伝子の変異配列の野生型配列への復帰や代償性変異により蛋白機能が回復した造血細胞クローンが増大する状態、すなわち「リバージョン・モザイク (reversion mosaicism)」が知られており、リンパ球の染色体断裂が非常に少なく診断が困難な場合が多い。今回リバージョン・モザイク型 FA と思われる 3 症例につき検討した。

【症例】

症例	1	2	3
性別	男	男	女
異常理学所見	皮膚/母指/低身長	皮膚/母指/耳/眼/ 低身長	皮膚/母指/眼/ 消化管/低身長
発症時年齢 (年)	6	6	4
移植時年齢 (年)	7	19	16
移植時病型	重症再不貧	重症再不貧	RAEB-1
リンパ球 DEB 断裂細胞 (%)	6	43	9
リンパ球 <i>FANCD2</i> モノクローニク化	正常	発現弱	正常
リンパ球 Mutation	2546delC/変異未検出	検討中	2546delC/-
体細胞 MMC 断裂細胞 (%)	施行せず	施行せず	骨髄 fibroblast 20%
体細胞 <i>FANCD2</i> モノクローニク化	頬粘膜異常	施行せず	骨髄 fibroblast 異常
体細胞 Mutation	頬粘膜 2546delC/2546delC	皮膚 fibroblast IVC-2A>T/?	骨髄 fibroblast 3295C>T/2546delC
移植前処置	TAI (3)+CY (40)+ Flu (150)+ATG (5)	TAI (3)+CY (40)+ Flu (150)+ATG (5)	TBI (4.5)+CY (40)+ Flu (150)+ATG (5)
キメリズム	Mixed キメラ	Mixed キメラ	Complete キメラ

【考察】リバージョン・モザイクを生じた FA では通常のリンパ球の染色体断裂やスクリーニングで用いる FANCD2 モノユビキチン化の異常がみられず、皮膚などの線維芽細胞の検索で初めて確定にいたることが多く、FA の診断が困難である。DEB によるリンパ球の染色体脆弱試験で断裂のない正常な細胞が 50%以上である場合にモザイクと定義されるが、その頻度は本邦 FA 患者では 30%近くにみられ、欧米諸国の 10%に比べ約 3 倍である。リバージョンを生じた細胞はアルキル化剤などの化学療法剤にも抵抗性であるため、前処置を弱めた FA の造血細胞移植に際しては、拒絶やキメラとなる可能性が高く注意が必要である。

造血不全症における血球テロメア長の測定意義

○坂口大俊¹⁾、高橋義行²⁾、濱 麻人³⁾、小島勢二⁴⁾、小原 明⁵⁾、中畑龍俊⁶⁾

¹⁾²⁾³⁾⁴⁾名古屋大学小児科

⁵⁾東邦大学大森病院輸血部

⁶⁾京都大学 iPS 細胞研究所

小児期発症造血不全症を対象にリンパ球テロメア長を flow FISH 法で測定し、臨床的意義を検討した。身体的特徴や遺伝子診断で先天性角化不全症 (DKC) と診断された 8 例では、全例において relative telomere length (RTL) は、年齢が一致した健常人の RTL の 5% 以下に短縮していた。この結果に基づき、テロメア長の測定が、身体的特徴を示さない潜在的先天性角化不全症のスクリーニングに有用であるかを検討した。特発性再生不良性貧血と診断されていた症例において、著しいテロメア長の短縮がみられたので、遺伝子検索をおこなったところ、TINF2 遺伝子の変異が発見された。これより、リンパ球テロメア長の測定は不全型先天性角化不全症のスクリーニングに有用と考えられた。さらに、免疫陽性療法開始前に測定した RTL が反応予測因子になりうるかを 40 例の小児再生不良性貧血患児について検討した。反応がみられない患児の RTL は反応がみられた患児の RTL と比較して有意に短縮していた。

さらに、これまで、免疫抑制療法の予測として有用とされてきた WBC, Ret, Plt, minor PNH clone 等をふくめて多変量解析をおこなったところ、リンパ球テロメア長の RTL のみが統計学的に有意な因子であった。

今回の研究結果から、リンパ球テロメア長が免疫抑制療法の反応予測に有用である可能性がしめされた。

Shwachman-Diamond 症候群の病態

渡邊健一郎

京都大学大学院発達小児科学

先天性骨髄不全症候群は、何らかの遺伝子変異により血球が適切に産生されなくなる疾患群である。近年様々な原因遺伝子が同定されてきているが、それらは必ずしも造血系に特異的なものではなく、むしろ DNA 修復、テロメアの維持、リボソームの生成といった生命維持に重要な役割を果たすものが多いことがわかってきている。

Shwachman-Diamond 症候群(SDS)は、膵外分泌不全、骨髄不全、骨格異常を主徴とする先天性骨髄不全症候群であり、骨髄異形成症候群、白血病を発症するリスクが高いことが知られている。2003 年に、7 番染色体上に存在する *SBDS* が原因遺伝子であることが報告された。*SBDS* 遺伝子のコードする蛋白は既知のドメイン構造を持っておらず、その機能は不明であった。しかし、様々な種のゲノムの解析から、*SBDS* は種を超えて高度に保存されており、RNA 代謝に関与することが示唆された。さらに *SBDS* ノックアウトマウスが胎生致死になることから、*SBDS* は生命維持に必須の蛋白であると考えられている。実際、SDS 患者の CD34 陽性骨髄細胞では、Fas を介したアポトーシスが亢進していることが報告され、この造血前駆細胞の細胞死が血球減少の原因であることが示唆された(Dror Y et al. Blood, 2001)。また、Hela 細胞で siRNA を用い *SBDS* をノックダウンしても、細胞死が亢進することが報告されている(Watanabe K et al. Haematologica, 2008, Apoptosis, 2008)。

一方で、*SBDS* 蛋白の主な機能はリボソーム生成の制御であることが明らかとなってきた。*SBDS* 蛋白は、細胞周期依存的に核小体に局在し、リボソームの 28S サブユニット、リボソーム生成や白血病発症に関与するヌクレオフォスミンと結合する。酵母では、*SBDS* の相同遺伝子である *Sdo1* を欠失させると、リボソーム生成が阻害される。*Sdo1* は pre-60S リボソームサブユニットからの Tif6 の放出を促進させる働きがあり、その結果 60S サブユニットは他のリボソームサブユニットとの結合が可能となり、リボソームは成熟し翻訳が活性化される。最近 Diamond-Blackfan 貧血等いくつかの骨髄不全の原因遺伝子がリボソーム生成に関与することがわかってきており、リボソーム生成異常がいくつかの骨髄不全に共通する病態である可能性が示唆されている。

他にも *SBDS* は、紡錘系の安定性、ストレス反応、好中球遊走といった様々な機能をもつことが報告されているが、今後このような知見と臨床症候との関連の解明が期待される。

サラセミア疾患の胎児診断に向けての母体血中有核赤血球の分離・同定法 (レクチン法)の最適化

○大坂享史²⁾³⁾、由良洋文²⁾³⁾、北川道弘¹⁾

¹⁾国立成育医療研究センター周産期診療部

²⁾国立成育医療センター研究所周産期病態研究部

³⁾株式会社ネーテック

サラセミアはヘモグロビン α または β 遺伝子の変異を原因とする遺伝性貧血症候群である。海外ではハイリスクの変異キャリアカップルに対して、胎児の遺伝子解析を行っているが、羊水検査や絨毛採取といったリスクの高い侵襲的な方法によって胎児細胞が採取されている。

母体血中には微量に胎児有核赤血球 (NRBC) が存在するが、NRBC を濃縮・分離しその遺伝子を分析することで、流産リスクのない非侵襲的なサラセミアの胎児診断が可能となる。そのため、国内外で研究が進められているが、FACS や MACS による分離方法では、遺伝子解析に十分な量と質の NRBC を得られていない。

我々は、レクチン法を用いた NRBC 分離法の確立を目指している。レクチン法は、細胞表面上の糖鎖発現量の多寡を利用したもので、糖鎖を特異的に認識するタンパク質であるレクチンの一種 SBA (soybean agglutinin) を介して、糖鎖発現量の多い細胞を糖鎖含有高分子材でコーティングされたスライドガラス上に選択的に付着させる方法である。これまで、ギムザ染色による形態的な判断により NRBC の同定が行われていたが、画像解析システムによる効率的な NRBC 同定を目的とした分離・同定法の最適化を行った。

男児を妊娠した妊婦の母体末梢血 7mL から、レクチン法によりスライドガラス上に細胞を分離した。蛍光免疫染色により、抗胎児性ヘモグロビン抗体陽性かつ DAPI 陽性細胞を NRBC 候補とした。免疫染色後の細胞に対して Y 染色体特異的のプロンプを用いた FISH を行い、候補細胞からシグナルを検出した。このことから、蛍光免疫染色を用いた方法により、NRBC を同定できることが示唆された。今後、この方法を用いて、胎児サラセミア遺伝子診断の応用への試みを開始した。

重症先天性好中球減少症 (Severe congenital neutropenia, SCN)

○中村和洋、小林正夫

広島大学大学院医歯薬学総合研究科小児科学

SCN は、乳児期早期からの慢性好中球減少 (末梢血好中球数 200/ μ l 以下)、重症感染症の反復、骨髄顆粒球系細胞の低形成、前骨髄球での成熟障害を特徴とする。欧米では Severe Chronic Neutropenia International Registry が国際的な登録を行っており、本疾患の発症頻度は 1~2/100 万と推定されている。本疾患は同一表現型を呈する異種な疾患群であり、約 60% で常染色体優先遺伝を呈する *ELA2* の変異が、約 20% で Kostmann 症候群として知られる常染色体劣性遺伝を呈する *HAXI* の変異が報告されている。その他 *WASP* の機能獲得型変異や糖代謝に関与する *G6PC3* の変異なども報告されているが、原因不明の症例も存在する。これらの変異により、好中球減少を呈する機序については不明であるが、骨髄前駆細胞におけるアポトーシスの関与が推定されている。当科で遺伝学的検討を実施した本邦 33 家系の解析では、*ELA2* の変異が 24 家系 (73%) に、*HAXI* の変異が 4 家系 (12%) に認められ、*HAXI* 変異例では、精神運動発達遅延、てんかんなどの中枢神経病変の合併が特徴的であった。遺伝的多様性にかかわらず臨床症状はほぼ一定しており、生後早期より気道感染、皮膚感染や肝臓瘍などを繰り返す。本疾患は G-CSF 投与により 90% 以上の症例で好中球増加が認められ、感染予防が可能となっている。しかし G-CSF 長期投与により、約 20% (高用量必要とする例では約 40%) の症例で骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病への移行が認められ、重症感染症とともに生命予後に影響を与えている。唯一の根治療法は造血幹細胞移植であり、主として悪性疾患進展例に対して実施されてきたが、治療関連毒性、再発などにより治療成績は不良である。当院では治療関連毒性軽減による移植成績の向上を目的に悪性疾患進展前の本疾患患者 5 例に reduced intensity regimen による骨髄移植を実施し、4 例で良好な経過を認めている。今後、本疾患の病態解明、診療ガイドラインの作成のために、本邦における症例の集積を施行している。

Ataxia Telangiectasia と細胞分化、腫瘍化の関連

○高木正稔、磯田健志、佐藤正樹、水谷修紀
東京医科歯科大学大学院発生発達病態学

先天性免疫不全の多くの責任遺伝子が明らかにされていく中で DNA 損傷応答機構にかかわる遺伝子の変異が多く見出されてきている。この DNA 損傷応答機構にかかわる遺伝子は DNA の非相同末端再結合や相同組換えを介して DNA 修復に深くかかわり、免疫グロブリンや T 細胞受容体遺伝子の再構成に重要な役割を担っている。毛細血管拡張性小脳失調症 Ataxia Telangiectasia (A-T) は小脳失調、毛細血管拡張、免疫不全を主徴とし、20-30%に悪性腫瘍を合併する。また早老症や耐糖能異常を示すことで知られている。ATM はホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI3K) ドメインを持つタンパク質で DNA 障害により活性化されタンパク質キナーゼとして働き、下流に位置する p53 や BRCA1 などリン酸化し、DNA 損傷応答機構の上で中心的な役割を持つ重要なタンパク質であることが知られている。しかしその機能は多岐にとみ、様々な細胞の発生分化、恒常性維持に重要な役割を担っていることが推測される。これまでの研究から ATM が血液細胞の分化、腫瘍化抑制に重要な役割を担っていることが明らかとなってきた。

骨髄異形成症候群 (MDS) はアポトーシスによる無効造血を特徴とする疾患で 40-50%が白血病 (overt leukemia; OL) に移行することから、白血病発症の前がん段階とも捉えられている。MDS における DNA 損傷応答の役割を明らかにする目的で、免疫組織染色を用いて検討した結果、DNA 損傷応答に関与するタンパク質が MDS の骨髄で活性化していることが明らかとなった。また一部の症例で MDS から OL へ移行した段階で ATM 遺伝子片側のアレルの欠失が起り、さらに p53 を獲得していることが明らかとなった。これら結果から MDS 細胞が OL へ進展するに当たり DNA 損傷応答機構にかかわる ATM と p53 の機能的失活を獲得したことが明らかとなり、MDS で DNA 損傷応答機構の活性化が cancer barrier として機能し、白血病化を抑えていることが明らかとなった。

またリンパ球の分化においても従来から T 細胞受容体 α 鎖再構性的問題から CD4 CD8 Double Positive 期の段階で分化が停滞することが知られていたが、T 細胞の CD4 CD8 Double Negative 期の DN 3 期においても T 細胞受容体 β 鎖再構性的に障害があり、細胞分化が停滞することが明らかとなった。この時期での細胞分化の障害が T 細胞性白血病発症に関連している可能性が示唆された。

先天性赤芽球癆 (Diamond Blackfan 貧血) の効果的診断法の確立に関する研究

○伊藤悦朗¹⁾、照井君典²⁾、土岐 力³⁾、小島勢二⁴⁾、小原 明⁵⁾、大賀正一⁶⁾、森尾友宏⁷⁾、
浜口 功⁸⁾、倉光 球⁹⁾、菅野 仁¹⁰⁾

¹⁾²⁾³⁾ 弘前大学小児科、⁴⁾ 名古屋大学小児科、⁵⁾ 東邦大学小児科、⁶⁾ 九州大学小児科、

⁷⁾ 東京医科歯科大学小児科、⁸⁾⁹⁾ 国立感染症研究所、¹⁰⁾ 東京女子医科大学遺伝医学

Diamond-Blackfan 貧血 (DBA) は、乳児期に発症する稀な先天性赤芽球癆である。約 40% の患者は種々の先天異常を合併する。最近の研究により、欧米では約 50% の DBA 患者にリボソームタンパク (RP) 遺伝子の変異が認められることが明らかになった。特に最初に報告された *RPS19* 遺伝子は約 25% の症例で変異が報告されている。しかし、本邦を含むアジアの DBA 患者の RP 遺伝子変異の頻度は不明である。我々は、本邦で発症した 68 例の DBA 患者 (64 例の発端者) の末梢血から DNA を抽出し、DBA で遺伝子変異が報告されている 8 遺伝子 (*RPS19*, *RPS10*, *RPS17*, *RPS24*, *RPS26*, *RPL5*, *RPL11*, *RPL35a*) と 5q-症候群の原因遺伝子として最近同定された *RPS14* を解析した。遺伝子解析は、弘前大学医学部の倫理委員会の承認を得て、本人あるいは両親の同意の上実施した。その結果、*RPS19* 遺伝子変異が 10 例 (8 家系) で検出され、その内の 3 つは新しい遺伝子変異であった。*RPL5* 変異は 6 例 (6 家系)、*RPL11* 変異は 3 例 (3 家系) で検出された。*RPS10*, *RPS17* と *RPS26* 変異は、それぞれ 1 例 (1 家系) に認められた。*RPS19*, *RPL5*, *RPL11* の遺伝子変異の頻度は、それぞれ 12.5%、9.3% および 4.7% であった。しかし、通常のシーケンス解析では片アレル欠失は検出できないため、定量的 PCR 法を用いた片アレル欠失検出法を開発し、原因遺伝子が不明である 17 症例で解析を行った。その結果、片アレル欠失は *RPS19* と *RPS17* に各 2 例、*RPL5* *RPL35a* に各 1 例、計 35.3% に認めた。興味深いことに、*RPL5* 変異をもつ患者は 7 例とも身体的異常を合併し、その内の 2 例は、口蓋裂を合併していた。この結果より、特に *RPL5* は胎児の発生にも他の RP より重要な役割を果たしていることが示唆された。本邦における DBA の発端者 64 例中 26 例 (40.6%) に RP 遺伝子の変異を認めた。欧米に比して本邦における RP 遺伝子の変異頻度は低く、60% の症例では原因遺伝子が不明である。DBA の病因の理解のためには、新規原因遺伝子の解明が必要である。

本邦におけるCongenital dyserythropoietic anemia(CDA)の責任遺伝子の解析

○土居崎小夜子¹⁾、村松秀城²⁾、濱 麻人³⁾、嶋田 明⁴⁾、高橋義行⁵⁾、小島勢二⁶⁾

神谷尚宏⁷⁾、真部 淳⁸⁾、多賀 崇⁹⁾

¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾名古屋大学小児科

⁷⁾⁸⁾聖路加国際病院小児科

⁹⁾滋賀医科大学小児科

はじめに

CDA は、先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群である。1966年に Crookston が初めて提唱し、1968年に Heimpel と Wendt がこれらの疾患群を I 型から III 型の 3 病型に分類した。診断は主に末梢血および骨髄における赤芽球系細胞の形態異常、電子顕微鏡所見、血清所見、電気泳動によりなされてきたが、近年責任遺伝子として、I 型では 19 番染色体上の CDAN1 が、II 型では 20 番染色体上の SEC23B が同定された。まれな病型である III 型の責任遺伝子は同定されていない。本邦では、2006 年の小児血液学会による全国アンケート調査において 12 例が把握され、I-III 型のすべての型がみられたが、遺伝子検索を行われた症例はなかった。2009 年に行われた CDA の効果的診断法の確立に関する研究班による全国アンケート調査での CDA 疑い症例は 16 例であった。今回、我々は本邦で初めて、CDA 責任遺伝子の変異解析を行った。

方法

CDA が疑われる貧血患者 9 例を対象に CDAN1、SEC23B 遺伝子について変異の解析を行った。方法は末梢血リンパ球から DNA を抽出し、コード領域全長の塩基配列を決定した。

結果

性別は男性 4 例、女性 5 例で、小児期発症例が 8 例(0~13 歳)で、成人例が 1 例(48 歳男性)であった。I 型診断/疑い例が 3 例、II 型診断/疑い例が 5 例、不明が 1 例であった。9 例中、CDAN1 遺伝子変異例、SEC23B 遺伝子変異例をそれぞれ 1 例認めた。CDAN1 変異例は成人発症例で、exon26 の missense 変異(c. 3503 C>T (p. Pro1129Leu))であった。SEC23B 変異例は形態学的には I 型が疑われていた新生児期発症例で、exon18 の missense 変異(c. 2122 A>G (p. Ile708Val))であった。今後、CDA 疑い症例で遺伝子解析を行い診断を確定するとともに、症例を蓄積して、本邦の CDA 患者における遺伝子変異について明らかにする必要がある。

先天性顆粒放出異常症

石井榮一

愛媛大学大学院小児医学

先天性顆粒放出異常症は細胞傷害性Tリンパ球 (CTL) や NK 細胞の顆粒放出の異常によりさまざまな臨床所見を呈する乳幼児の疾患の総称であり、家族性血球貪食性リンパ組織球症 (FHL)、Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、Hermansky-Pudlak 症候群などが含まれる。

FHL はこれまで PRF1, UNC13D, STX11, STXBP2 と 4 種類の遺伝子異常が同定されている。日本では PRF1, UNC13D による FHL2, FHL3 が 80%以上を占めており STXBP2 による FHL5 は 10% 以下であった。各亜型の頻度は人種間で差があるものと推測される。またいずれの亜型でも顆粒放出異常により CTL 活性低下を認めるが、その程度は遺伝子異常の種類と遺伝子型により差がある。FHL の臨床像は二次性 HLH と差がないことから、現在 FHL のスクリーニングは flow cytometry や Western 解析の他、CD107a による顆粒放出異常の有無を同定する方法が実施されている。

Chediak-Higashi 症候群、Griscelli 症候群、Hermansky-Pudlak 症候群に関する日本の実態は不明であったが、昨年日本小児血液学会 HLH/LCH 委員会で全国調査を行い、Chediak-Higashi 症候群 14 例 (うち 3 例は 10 年以上前の症例)、Griscelli 症候群 0 例、Hermansky-Pudlak 症候群 4 例が集積された。現在その解析を進めているところであるが、Chediak-Higashi 症候群の長期生存例は中枢神経合併症が多いことが判明した。CTL 活性の低下と顆粒放出異常を認めるが、遺伝子型との関連については今後症例を増やして解析する必要がある。また Griscelli 症候群は今回の調査で 1 例も存在しないことが判明したが、新たに Hermansky-Pudlak 症候群の存在が明らかとなった。その一部の症例では肺や心疾患を合併しており解析対象を成人に拡大していく必要がある。

その他 HLH を合併する疾患として X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP) がある。そのうち XIAP 異常による XLP2 は HLH を合併する頻度が高いが、我々の解析では CTL 活性および顆粒放出は正常であり HLH をきたす原因は不明である。

治療については主として FHL を対象に HLH-2004 治療研究が進められている。CSA, steroid, VP16 の 3 剤併用療法を行い造血幹細胞移植に進む治療法であるが、現在 VP16 に代わる新たな免疫抑制剤の使用が検討されている。他の顆粒放出異常症に関しても基本的には造血幹細胞移植を行う必要があるが、合併症予防も含めた長期的なフォローアップ体制が必要と考えられる。

iPS細胞を用いた、先天性造血不全疾患の解析への取り組み

○丹羽 明、大嶋宏一、田中孝之、斎藤潤、中畑龍俊

京都大学 iPS細胞研究所 臨床応用研究部門疾患再現研究分野

我々の研究室では先天性造血不全を含む様々な疾患患者由来の iPS 細胞を樹立し、これを用いて病因・病態を解析することを目指している。iPS 細胞の広汎な分化能を生かし、個々の血液細胞レベルでの病態解析のみならず、種々の体細胞を用いた細胞間相互作用の解析を通じ、包括的疾患理解のための新たなモデルを構築したいと考えている。そのような研究を効率的に行うため、まず 1) 疾患 iPS 細胞の樹立、2) 病態を反映しうる分化、3) 分化させた細胞の解析、という 3 点について最適な実験系を検討し、その上でそれらを適切に組み合わせる必要がある。

【疾患 iPS 細胞の樹立】ファンコニ貧血、CINCA 症候群などの血液・免疫疾患を中心に、8 種 20 例以上の iPS 細胞を樹立している(現在樹立中のものも含む)。興味深いことに、こうした疾患患者の細胞においては、その特質ゆえに iPS 細胞樹立そのものが非常に困難な場合がある。現在そうした疾患においても安定して iPS 細胞を樹立できるような系の工夫を試みている。

【適切な分化系の構築】質の高い疾患解析には、しばしば複数患者に由来する多クローンの iPS 細胞を扱いつつ、同時にそれらを効率よく解析することが求められる。そのような場合、「手技の簡便さ」「高い分化効率」「高い再現性」を兼ね備えた分化系は肝要である。我々は、ヒト ES/iPS 細胞を用い、上記の要素を満たしながら種々の造血細胞を誘導できる、新たな二次元無血清培養系を構築した。この血球分化系を用いると、生体内での分化系路を適切にトレースしながら赤血球・好中球など様々な機能的血球を作成することができるため、本系を用いた新たな疾患解析系の構築を試みている。

【分化細胞の解析】既にいくつかの疾患については、実際に iPS 細胞由来の血液細胞を誘導し、in vitro での病態再現に成功したものもある。今後はそれらの解析を更に推し進め、疾患の病因・病態に迫る研究へと発展させたいと考えている。また、創薬・診断法開発のツールとして応用し、それらの成果が疾患患者さんへ還元できるよう目指している。

V. 參考資料

アンケート 回答用紙

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
「遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類・治療法の確立研究班」
「特発性造血障害調査研究班」

鉄芽球性貧血の疫学・病態解析に関する 多施設共同後方視的研究

Q1. 2000年1月以降、貴科におきまして鉄芽球性貧血と診断された症例はありますか？（□にレ点をご記入下さい）また、ご経験がある場合、その具体的な症例数をお書き下さい。

あり → (例)

遺伝性鉄芽球性貧血

後天性鉄芽球性貧血

薬剤性、中毒性

骨髄異形成症候群（鉄芽球性不応性貧血）

その他

なし

Q2. Q1で「あり」とお答えいただいた症例につきまして、一次調査にご協力いただけますか。

はい

いいえ

【最後に、以下の欄にご記入をお願い致します。】

貴施設名	
お問い合わせにお答えいただける方	
電話番号	
e-mail	

今回のアンケートはこれで終了です。全ての疾患で症例が「ない」という回答の場合でも、同封の返信封筒をご利用いただき、ご返信いただきますようお願い申し上げます。

研究事務局：〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町 1-1
東北大学大学院医学系研究科血液・免疫病学
張替 秀郎 TEL：022-717-7165
 FAX：022-717-7497
 E-mail：harigae@mail.tains.tohoku.ac.jp

別紙2

厚生労働省難治性疾患克服研究事業「遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類と治療法の確立」班

鉄芽球性貧血の疫学・病態解析に関する多施設共同後方視的研究

症例登録票

データセンター FAX: 022-717-7497

送付日: (西暦) 年 月 日

<登録医師 記入欄>

医療機関名					
科名					
登録医師					
登録医師 連絡先	住所	〒			
	TEL		FAX		
	e-mail				
施設別患者 匿名化ID			性別	<input type="checkbox"/> 男性 <input type="checkbox"/> 女性	
生年月日	(西暦) 年 月 日		診断時の年齢	歳	
貴施設における 診断	<input type="checkbox"/> 遺伝性鉄芽球性貧血 <input type="checkbox"/> 後天性鉄芽球性貧血 <input type="checkbox"/> 薬剤性、中毒性 <input type="checkbox"/> 抗結核薬 <input type="checkbox"/> 鉛 <input type="checkbox"/> アルコール性 <input type="checkbox"/> その他() <input type="checkbox"/> 骨髄異形成症候群 (鉄芽球性不応性貧血) <input type="checkbox"/> 基礎疾患に伴うもの <input type="checkbox"/> 関節リウマチ <input type="checkbox"/> その他()				

データセンター使用欄

登録番号		受付日	
------	--	-----	--

別紙 4

各施設 郵送→研究事務局

(一次調査用紙 6-1)

厚生労働省難治性疾患克服研究事業

「遺伝性鉄芽球性貧血の診断分類と治療法の確立」班

「鉄芽球性貧血の疫学・病態解析に関する研究」

一次調査用紙

登録番号 _____

施設名 _____

施設連絡先 tel _____

登録医師 _____

診断時の情報		
内服薬	抗リウマチ薬	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり
家族歴	鉄芽球性貧血	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 続柄 ()
	ポルフィリン症	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり 続柄 ()
生活歴	アルコール摂取	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (<input type="checkbox"/> 診断時も摂取 <input type="checkbox"/> 禁酒後) _____ ml/日を _____ 年
既往歴	関節リウマチ	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (発症年齢 _____) (治療 <input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり (_____))