

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

先天性角化不全症の効果的診断法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

小児期造血障害疾患登録による先天性角化不全症疫学データベース構築
研究分担者 小原 明（東邦大学医療センター大森病院輸血部 教授）

研究要旨： 稀少な先天性角化不全症(DC)研究の基礎となる疫学データベースの構築を実施した。小児血液学会疾患登録事業を元にし、DCの症例把握に努めた結果、2006から2010年に診断されて登録された427例の造血障害症例から、新規診断DC症例が3例報告された。これは先行研究から外挿された頻度よりも有意に多く、本研究班の活動により造血不全、血液症状を呈するDCが小児血液科医師に認知され、診断の手引き、遺伝子診断の体制が整った事により潜在する症例が見いだされ、正確な診断が行われた可能性が高い。

A. 研究目的

【背景】

先行研究の調査対象期間（1988年から2004年）に1,337例の小児造血障害疾患があり、DC症例は6例(0.45%)であった。2007年に日本小児血液学会疾患登録事業が開始され、小児血液学会会員施設で診断された造血不全疾患が年度毎に報告され登録される体制が整えられた。これまで当研究班の年次報告で診断年度別症例数を把握し、他の小児造血不全と比較してきた。

【目的】

本邦小児の先天性角化不全症症例の疫学データベース構築を目的に、小児血液学会疾患登録事業（全数把握）を一次調査とした疫学観察研究（小児血液再不貧2005研究・MDS2006研究）を実施する。質の高いデータベース構築により、これを基盤としたDCの診断法・治療法開発を目指す。

B. 研究方法

本研究班の研究では治療介入を行わない、疫学観察研究として実施する。小児血液学会会員 231 - 239 施設を対象にした全例登録（疾患登録事業）は、前年診断症例を対象に Web 登録にて実施さ

れ、およそ診断から1年経過した段階で二次調査（再不貧 2005 研究・MDS2006 研究）が実施した。構築されるデータベースには小児期発症の造血障害全般を網羅し、DC 症例に限定はしない。（倫理面への配慮）

研究計画は、疾患登録事業、小児血液再不貧 2005 研究・MDS2006 研究により構成され、いずれも小児血液学会臨床研究審査委員会の科学倫理審査承認を得た。

C. 研究結果

2006, 2007, 2008, 2009, 2010 年診断登録症例数を表に示す（表）。

a.疾患登録（一次調査）症例: 小児血液学会会員 231- 239 施設の約 90%に相当する 184-216 施設が登録した。非腫瘍性血液疾患は毎年 1200 から 1300 症例であり、血小板異常症が最多。造血障害疾患は総計 427 例で、そのうち特発性再不貧は毎年 50-56 例とほぼ一定した症例数であった。

b. Dyskeratosis congenita; DC 症例は 5 年間で 3 例登録された（表）。

D. 考察

小児血液学会疾患登録事業は2006年に開始され、さらに2009年2月から実施している形態中央診断により、診断精度が向上している。

本研究班の対象疾患であるDCに対しては、2007年に疾患登録事業とほぼ同じ施設を対象に実施した先行研究（1988-2004年症例）で、17年間1,337例の造血障害から6例(0.45%)のDC症例が登録されている事実から95%CI区間推定0.42-0.47%をもとめ、これを元に外挿すると、今回の調査期間総症例数427例の予想症例数は1.8から2例となるが、実際の診断症例数は3例で、これは先行研究よりも有意に多い。すなわち造血不全、血液症状を呈するDCが当研究班の活動により診断の手引き、遺伝子診断の体制が整い、小児血液科医師に認知され、中央診断事業により潜在する症例が見いだされている可

能性が高い。

E. 結論

今回の疾患登録調査で2006から2010年に診断されて登録された427例の造血障害症例から、新規診断DC症例が3例報告された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表

Diagnosis / Year	2006	2007	2008	2009	2010
Hospitals (registered/member)	184 / 223	204 / 231	212 / 235	213 / 236	216 / 239
(%)	83%	88%	90%	90%	90%
Idiopathic AA	58	57	59	51	48
Hepatitis AA	5	8	11	6	12
AA / PNH	2	1	1	0	1
Fanconi Anemia	5	4	4	1	4
Diamond-Blackfan	14	10	14	18	9
Svere Cong. Neutropenia	2	1	2	0	3
Cyclic Neutropenia	1	3	2	3	2
Schwachman-Diamond	0	1	0	1	0
Dyskeratosis congenita	1	0	0	1	1

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

骨髄生検の病理診断

研究分担者 伊藤 雅文（名古屋第一赤十字病院病理部 部長）

研究要旨： 小児造血障害症候群の多くは、汎血球減少を呈し、血液学および骨髄病理学的鑑別診断が困難である。MDS、再生不良性貧血を中心とする小児造血障害は中央診断が行われている。免疫染色を加えた骨髄病理診断を基に、客観的指標に基づく造血障害症候群の診断アルゴリズムを構築する。先天性角化不全症を含む先天性造血障害症候群の造血障害のメカニズムについて検討する。

A. 研究目的

わが国では、小児造血障害症候群を網羅的に中央診断するシステムが構築され、その病理診断を用いて、標準化された病理診断を行っている。再生不良性貧血、MDS、先天性造血障害はその多くが汎血球減少を主体とする臨床病態が類似し、また骨髄病理像は極めて近似し、鑑別診断は従来多くの場合困難であった。多数例の中央診断化により、一定の組織像における特徴が抽出され、再生不良性貧血およびMDSについてはほぼ安定した診断を得ることができてきた。その他の造血障害の中に、先天性造血障害症候群が含まれ、極めて多彩な疾患からなり、臨床病態で特徴を有する疾患は比較的特定の遺伝子異常などにより診断が可能となってきた。先天性角化不全症は、汎血球減少を示す先天性造血障害症候群の一亜型である。特徴的臨床像を呈する症例はまれで、疑い症例からテロメア長などの情報をもとに先天性角化不全症を診断する必要がある。本研究では、中央診断から得られた病理組織学的特徴から、先天性造血障害症候群の特徴を明らかにし、その診断アルゴリズムを構築することを目的とする。

B. 研究方法

小児造血障害症候群の中央診断は、末梢血、骨髄塗抹細胞および骨髄生検、クロット標本を用いた病理組織学的検討、テロメア長測定や遺伝子解析を含

む総合的評価で中央診断を行う。

骨髄病理診断は、HE 標本と未染標本 5 枚の提供を条件とし、p53、CD42b、胎仔型ヘモグロビン(HbF)、CD34 の免疫染色を行い、総合的に診断する。

MDS に特徴的な項目で、客観性の高い所見に加点することで、そのスコアを合計する。スコアと、中央診断の相関を検討しスコアを用いた診断アルゴリズムを構築する。

（倫理面への配慮）

日本小児血液学会としての登録事業の一環で、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究である。匿名化、個人情報守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。

C. 研究結果

2009 年から 2011 年までに中央診断に病理標本が提出された 506 例を検討した。再生不良性貧血 101 例、RCC 135 例、RCMD 53 例、RAEB,AML43 例、JMML 18 例、先天性造血障害症候群 21 例、その他 87 例、検体不良 48 例であった。スコア 5 点以上の症例は、RCC98 例、RCMD 50 例、RAEB, AML の 43 例全例、JMML86 例で、全例腫瘍性病変であった。2-4 点では、先天性造血障害症候群 3 例、RCC 12 例、RCMD 3 例、JMML 1 例。2 点以下の症例は、再生不良性貧血の全例、先天性造血障害症候群 18 例で、腫瘍性病変は一例も含まれなかった。今回

の検討症例には先天性角化不全症は含まれなかった。

D. 考察

小児造血不全症候群は、その臨床病態、病理組織像が極めて近似するため、病理診断の施設間での診断不一致が多く見られた。中央診断により多数例を経験することで診断の安定化が得られたが、病理組織学的に客観化できる所見のみでのスコア化が極めて診断に有効であることが明らかとなった。先天性造血障害症候群は、境界群と非腫瘍群に含まれた。今回のリストには含まれなかったが先天性角化不全症の病理組織所見は、組織学的に先天性造血不全症候群のパターンで、スコアも2点以下を呈した。組織学的にテロメア長のFISH法による解析を加えることで、病理組織学的にも診断にアプローチが可能と考えられる。

E. 結論

先天性角化不全症を含む先天性造血障害症候群の抽出には、客観的な評価を加えた中央診断が重要で、看過されてきた症例の抽出が可能と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 伊藤雅文: MDSの骨髄病理組織: 骨髄異形成症候群(MDS)診療 up-to-date (松田晃編) 中外医学社 pp35-48, 2011
- 2) 伊藤雅文: 新しい診断と治療のABC 再生不良性貧血(小澤敬也編) 第2章 病理 最新医学別冊 pp31-38, 2011
- 3) 吉田奈央、平林真介、渡辺静、在家裕司、土田昌宏、吉見礼美、増永敦子、大塚欣敏、伊藤雅文、小島勢二、中畑龍俊、真部淳: 若年性骨髄単球性白血病75例の予後: 小児血液学会MDS委員会の前方視的検討 臨床血液 52: 1853-1858, 2011

2. 学会発表

- 1) Hama, A. Manabe, K. Nozawa, H. Sakaguchi, S. Doisaki, H. Muramatsu, A. Shimada, Y.

Takahashi, A. Ohara, M. Ito, S. Kojima: Central review of the morphology in childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. 第73回日本血液学会学術集会

- 2) D. Hasegawa, X. Chen, S. Hirabayashi, S. Watanabe, Y. Zaike, M. Tsuchida, A. Masunaga, A. Yoshimi, A. Hama, S. Kojima, M. Ito, Y. Ishida, T. Nakahata, A. Manabe: Refractory cytopenia of childhood (RCC): a prospective study using a central review by the JSPH. 第73回日本血液学会学術集会
- 3) W. Yang, P. Zhang, A. Hama, M. Ito, S. Kojima, X. Zhu: Diagnosis of childhood MDS in Japan and China according to the WHO classification. 第73回日本血液学会学術集会
- 4) A. Shimada, A. Goto, Y. Xu, H. Sakaguchi, S. Doisaki, H. Muramatsu, A. Hama, Y. Takahashi, Y. Noda, S. Kojima, M. Ito: Frequent TP53 mutations in pediatric refractory cytopenia of childhood but rare in aplastic anemia. 第73回日本血液学会学術集会
- 5) H. Yoshihara, T. Kamiya, R. Saito, S. Yonekawa, D. Hasegawa, C. Ogawa, K. Nozawa, A. Hama, S. Kojima, M. Ito, A. Manabe, R. Hosoya: Refractory cytopenia of childhood (RCC) in a single institute. 第73回日本血液学会学術集会
- 6) M. Yamamoto, K. Igarashi, N. Hatakeyama, N. Suzuki, H. Tsutsumi, H. Nogushi, K. Nakanishi, M. Ito, H. Miyachi, T. Oda: Various chromosomal aberrations arising after RIC-CBT in childhood hypocellular AML. 第73回日本血液学会学術集会
- 7) A. Hama, M. Ito, A. Manabe, A. Ohara, S. Kojima: A comparison of clinical findings between aplastic anemia and refractory cytopenia of childhood in 78 cases reviewed by central reviewers. 11th International

Symposium on Myelodysplastic Syndromes.
Edinburgh, UK, May 18-21, 2011

- 8) M. Ito, A. Hama, A. Manabe, S. Kojima:
Diagnosing pediatric bone marrow failures
by objective myelodysplastic syndrome
scoring system: A histopathological review.
11th International Symposium on
Myelodysplastic Syndromes. Edinburgh, UK,
May 18-21, 2011

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

不全型先天性角化不全症の新規診断法の開発

研究分担者 山口 博樹（日本医科大学血液内科 講師）

研究要旨： 先天性角化不全症(DKC)や不全型DKC の診断は、テロメア長の短縮化を検索することが有用である。テロメア長の短縮化の検索法としてReal time PCR法の有用性を検討した。Real time PCR法は、Southern blotting法やFlow FISH法と同様にテロメア長の短縮を検索することが可能であった。検索に必要なDNA量は、Southern blotting法やFlow FISH法に比べ約1/5~1/10でありBMF症例の臨床検査としては有用であった。

A. 研究目的

先天性角化不全症 (Dyskeratosis congenita: DKC)は網状色素沈着、爪の萎縮、舌の粘膜白斑症などといった特徴的身体的所見を伴う先天性の骨髄不全症(Bone marrow failure: BMF)である。10歳前後までに約80%以上の症例にこれらの特徴的身体的所見が付随しBMFを発症する。また約8%の症例に皮膚、上咽頭、消化管の扁平上皮癌や腺癌などの悪性腫瘍や、急性白血病などの造血器腫瘍の発生が認められる。遺伝型式はX連鎖劣性遺伝が35%、常染色体優性遺伝が5%、常染色体劣勢遺伝が数%に認められるが、残りの約60%近くが型式不明である。DKCの約60%の症例において原因遺伝子が同定され、テロメラーゼ複合体を構成する遺伝子群である、*DKC1*、*telomerase RNA component (TERC)*、*telomerase reverse transcriptase (TERT)*などや、Shelterin複合体を構成する蛋白である*TRF-interacting nuclear protein (TINF2)*に変異が認められている。

テロメラーゼ複合体は細胞分裂によるテロメアの短縮化に対しテロメアの複製、安定の役割をもち、Shelterin複合体はテロメアの先端部位の特異的な構造形成や保護などを行っている。DKCはこれらの遺伝子の変異によりテロメアが短縮化し、その結果造血幹細胞などの増殖能に障害が起き上記の症候

が形成されると考えられている。

これまでに我々はDKCの原因遺伝子である上述のテロメア制御遺伝子の変異が、一部の再生不良性貧血(aplastic anemia: AA)や骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS)に認められ、特徴的的身体所見を伴わず緩徐に発症する不全型DKCの存在が明らかにした(Lancet 2003;362:1628, Blood 2003;102:916, N Engl J Med. 2005 352:1413)。不全型DKCは臨床的にAAやMDSと診断され、効果が得られない免疫抑制療法(immunosuppressive therapy: IST)が行われることがある。以上よりBMFの臨床診断において不全型DKCを鑑別することは重要である。

DKCや不全型のDKCをスクリーニングする方法として遺伝子変異検索が考えられる。しかしテロメア関連遺伝子変異の検索は煩雑で、実際の臨床でのスクリーニングには不向きである。この理由として、①約1/3のDKCは原因遺伝子が不明であり、既知の遺伝子変異検索では不完全である。②対象となる遺伝子が多く、また遺伝子変異にhot spotがないためこれらの遺伝子の全長を検索しなくてはならない。③発見された塩基変異がテロメア長制御に影響をあたえる否かは機能解析を行わなければならない。などが考えられた。

現在のところDKCや不全型DKC症例のスクリ

ーニング法としては、テロメア長の短縮化を検索することが実用的であると考えられている。本邦では Southern blotting 法か Flow FISH 法を用いて、テロメア長の短縮化を検索し DKC や不全型 DKC 症例をスクリーニングしている。しかし Southern blotting 法は、DNA が 1ug 以上は必要で、末梢血や骨髄の細胞数の少ない BMF 症例では検体採取が困難な場合がある。Flow FISH 法は Southern blotting 法よりは必要な細胞は少ないが、やはり細胞数が少ないと正確な結果を出すことが困難な場合がある。また解析にはコントロールとなる 1301 細胞株が必要となるため、解析のたびに 1301 細胞を培養しなくてはならない。

Real time PCR 法によるテロメア長測定は、細胞数が少ない BMF が対象であっても簡便で高感度にテロメア長の短縮化を検索することができると考えられた。我々は Real time PCR 法によるテロメア長測定の実験系を確立し、従来の Southern blotting 法や Flow FISH 法と同様に DKC や不全型 DKC 症例をスクリーニングすることが可能かを検討した。

B. 研究方法

対象は DKC1 症例、不全型 DKC2 症例、同世代の健常人 13 人。DNA 検体は 10ng を使用し、各症例 3 回の測定を行い、その平均値を結果として用いた。

テロメア長測定のための Real time PCR 用の primer は、tel1 primer は 3'端より 6、12、18、24、30、32-37 塩基が、tel2 primer は 6、12、18、24、30、34-39 塩基がヒトテロメア TTAGGG 繰り返し配列とミスマッチの配列となっている。このミスマッチによってそれぞれの primer はヒトテロメア配列に annealing することが可能であるが、tel1 primer と tel2 primer はどの様な形で annealing をしても、3'端の塩基がミスマッチとなり primer dimmer による増幅が起こらない様に工夫をした。

検量線は Flow FISH 法との比較をすることが容易になるように 1301 細胞から抽出した DNA を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は当施設遺伝子倫理審査委員会において承認が得られており以下の配慮を予定している。生命倫理上の配慮に関しては、患者、及び健康ボランティアの人権、利益の保護について文書にて十分説明をしたうえで同意を得る。また研究への協力に同意した後であってもその同意を取り消すことができること、更に本研究への同意が得られない場合においても今後の治療などにはなんら不利益を被らないことを説明する。個人情報漏洩に対する取り組みとして研究組織とは別に個人情報管理者をおき連結可能匿名化をはかったうえで解析をおこなう。同意が撤回された場合は、検体、診療情報、遺伝情報はすべて匿名化されたまま焼却により破棄する。得られた結果は学会や論文として発表するが個人情報が出ることはない。遺伝子結果の開示を研究対象者が要求する場合は、倫理的問題を考慮し遺伝子カウンセリングを施行し、結果の告知は臨床遺伝専門医(遺伝カウンセラー)により行う。

C. 研究結果

1. Southern blotting 法によるテロメア長測定

DKC 症例(22-402)(図 1)と不全型 DKC 症例(J169)(図 2)は age mach コントロールと比較して明らかにテロメア長の短縮を認めた。またもう一例の不全型 DKC 症例(32-266) (図 3)は、age mach コントロールと比較して軽度のテロメア長の短縮を認めた。

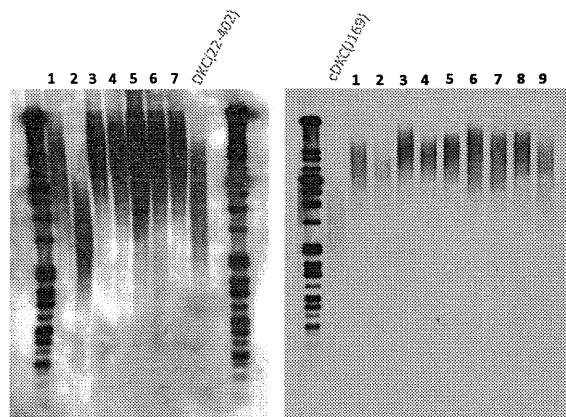


図 1

図 2

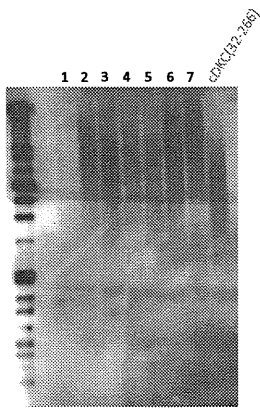


図 3

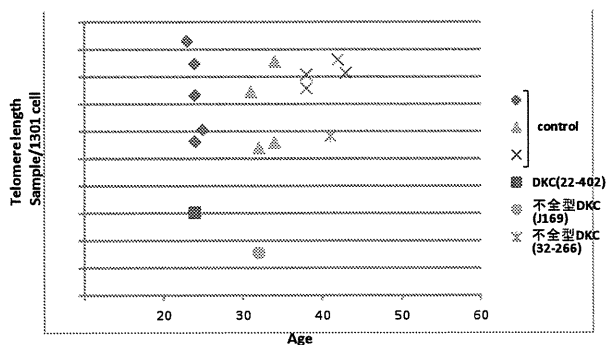
図 1 1, 3-7: age-matched control, 2: テロメア長が短縮したコントロール検体

図 2 1-9: age-matched control

図 3 1-7: age-matched control

2. Real time PCR 法によるテロメア長測定

DKC 症例(22-402)と不全型 DKC 症例(J169)は age mach コントロールと比較して明らかにテロメア長の短縮を認めた(22-402: 41%, J169: 38.1%)。また Southern blotting 法と同様に不全型 DKC 症例(32-266)は、age mach コントロールと比較して軽度のテロメア長の短縮を認めた (32-226: 46.8%)。



D. 考察

Real time PCR 法は、Southern blotting 法や Flow FISH 法と同様にテロメア長の短縮を検索することが可能であった。使用 DNA 量は、テロメア PCR 用に 30ng、補正用の GAPDH の PCR 用に 30ng、計 60ng で、Southern blotting 法の約 1/10、Flow FISH 法の約 1/5 でスクリーニングが可能であった。また今回検索した Southern blotting 法による DKC

や不全型 DKC 症例のテロメア長の実測値と Real time PCR 法による 1301 細胞のテロメア長との比較値には関連が認められ、Real time PCR 法は半定量性もあると考えられた。

今後 BMF のテロメア長は、まず Real time PCR 法にてスクリーニングを行い、テロメア長の短縮化が疑われる症例は、Flow FISH 法か Southern blotting 法でテロメア長の短縮化を確定するという方法が良いのではないかと考えられた。

E. 結論

Real time PCR 法は、Southern blotting 法や Flow FISH 法と同様にテロメア長の短縮を検索することが可能であった。検索に必要な DNA 量は、Southern blotting 法や Flow FISH 法に比べ約 1/5~1/10 であり BMF 症例の臨床検査としては有用であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 山口博樹. 病理・病態生理：病因と病型分類. 小澤敬也編, 新しい診断と治療の ABC 72 「再生不良性貧血」最新医学別冊, 最新医学社. 2011; p39-44.
- 2) 山口博樹, 猪口孝一. MDS に対する新規治療薬開発の現状. 血液内科. 2011; 63(2): 195-201.
- 3) 山口博樹, 山川光徳, 猪口孝一, 室井一男編, 血液・造血器疾患のマネージメント. 医薬ジャーナル社. 2011.

2. 学会発表

- 1) Takeuchi J, Yamaguchi H, Tamai H, Mitamura Y, Kosaka F, Inokuchi K, Dan K. Telomerase activity is useful for the screening of cryptic and late onset Dyskeratosis Congenita and the evaluation of the treatment response to anabolic steroids for their bone marrow failure. 16th. European Hematology Association. 2011 年 6

月, ロンドン.

- 2) Takeuchi J, Yamaguchi H, Tamai H, Mitamura Y, Kosaka F, Inokuchi K, Dan K. 不全型先天性角化不全症の診断と治療反応性におけるテロメラーゼ活性測定の有用性. 第73回日本血液学会, 2011年9月, 名古屋.

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

遺伝性疾患と間質性肺炎に関する研究

研究分担者 長谷川 好規（名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学 教授）

研究協力者 橋本 直純（名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学 助教）

研究要旨： 先天性角化不全症(DKC)の一表現型としての肺線維症が予後に大きな影響を与える。本研究では、特発性肺線維症の発症分子メカニズムを解明することにより、DKCにおける肺線維症の発症メカニズムに迫るとともに、その分子制御に関する研究を実施した。その結果、TGF- β 誘導性上皮間葉移行における肺線維化メカニズムにおけるシグナル伝達分子の一つであるPTENのC末端側リン酸化部位の活性制御は、上皮間葉移行を抑制することが示された。

A. 研究目的

先天性角化不全症(DKC)の一表現型としての肺線維症の発症メカニズムを理解するために、肺線維症の発症分子メカニズムを解明し、その分子制御に関する研究を実施する。特に、線維化病変形成に関わる活性化 Ras 誘導をもたらす増殖因子刺激(RTK)、TGF β および低酸素状態を包括的に制御する治療戦略として PTEN に着目し、PTEN C 末端リン酸化の役割を解析する。

B. 研究方法

肺胞上皮細胞を用いて TGF β 刺激による PTEN 発現、PTEN C 末端リン酸化部位リン酸化、その表現型変化における影響を評価する。薬物調節型遺伝子導入システムを導入した肺上皮細胞 H358 細胞に、薬物調節型 GFP、GFP-PTEN^{wild} および GFPPTEN4A（PTEN C 末端リン酸化部位遺伝子変異）を導入した後、TGF β 刺激による EMT を介した表現型変化を検討する。また、細胞遊走能と増殖能も合わせて評価する。

（倫理面への配慮）

本研究課題は遺伝子組換え生物の使用に当たって拡散防止措置を省令に準じて講じている。一方、ヒトの遺伝子解析への配慮や生命倫理に関する留意事

項に該当しない。

C. 研究結果

TGF β 刺激により肺上皮細胞が E-Cadherin の減弱と Fibronectin の増強を伴う EMT 表現型の獲得と遊走の亢進を確認した。同時に PTEN リン酸化 (p-PTEN) の亢進を認めた。

GFP-PTEN4A 導入細胞株でのみ、細胞遊走能の有意な抑制と EMT 表現型誘導の抑制が認められた。

D. 考察

線維化病変から過剰産生および活性が誘導される TGF β 刺激により、肺上皮細胞は有意な PTEN 発現抑制と PTEN C 末端リン酸化亢進をもたらされることを明らかにした。PTEN4A 遺伝子導入は TGF β 誘導細胞遊走および EMT 表現型獲得を完全に抑制したことから、PTEN C 末端リン酸化部位のリン酸化制御は極めて有用な治療標的となることが示唆された。

E. 結論

肺線維症における線維芽細胞の制御と遊走能の制御において、PTEN C 末端側リン酸化部位の修飾は新たな線維化治療の分子標的となることが示唆され

た。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Maeda M, Hasegawa Y, et al. ARHGAP18, a GTPase-activating protein for RhoA, controls cell shape, spreading, and motility. **Mol Biol Cell. 2011 ;22:3840-52.**
- 2) Saito S, Hasegawa Y, et al. Mesenchymal stem cells stably transduced with a dominant-negative inhibitor of CCL2 greatly attenuate bleomycin-induced lung damage. **Am J Pathol. 2011 ;179:1088-94.**

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

皮膚科領域における疫学調査、診断治療ガイドラインの策定

研究分担者 秋山 真志（名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学分野 教授）

研究要旨： 先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域を含めた全国疫学調査の基礎となる情報を確立するために、前年度に引き続き国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域におけるDC診療の問題点を明らかにした。さらに、本年度は、本邦での皮膚科領域も含めたDC診療の実態把握のための全国疫学調査を開始した。具体的には、本研究で行ってきたDC全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めた。この疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータを集積しつつある。

A. 研究目的

本研究の目的は、先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域における患者数、診療実態を明らかにし、実態に即した診断基準、治療指針を作成することである。本年度は、そのための全国疫学調査の基礎となる情報を確立するために、前年度から継続して国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域におけるDC診療の問題点を明らかにすることを目的として研究を行った。さらに本邦での皮膚科領域も含めたDC診療の実態把握のための全国疫学調査を開始した。具体的には、本研究で行うDC全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めて調査した。

B. 研究方法

先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域を含めた全国疫学調査の基礎となる情報を確立するために、前年度から継続して国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域におけるDC診療の問題点を明らかにした。前年度の文献調査の結果、本邦での皮膚科領域でのDC診療の実態についての情報は非常に限られたものであることが明らかになったことから、全国の皮

膚科関連基幹診療施設に、新たに、DC診療状況のアンケート調査を施行、上記疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針（平成23年度暫定版）を作成する基礎となるデータを集積しつつある。（倫理面への配慮）

本研究は、ヒト遺伝子解析結果等の情報を含むため、倫理的配慮と研究対象者に対する十分なインフォームドコンセントの下、施行した。

C. 研究結果

先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域における国内外の文献調査を前年度に引き続き施行し、皮膚科領域でのDC診療の問題点を明らかにした。それら問題点としては、1）疾患名が統一されていない、2）診断基準が不明確、3）疾患としての認知度が低い、等が挙げられた。また、我々の文献調査の結果、本邦での皮膚科領域でのDC診療の実態についての情報は非常に限られたものであり、病因遺伝子変異検索を行う施設は、本邦の皮膚科関連施設には無いことが明らかになった。さらに、本年度は、本邦での皮膚科領域も含めたDC診療の実態把握のための全国疫学調査に着手した。具体的には、本研究

で行う DC 全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めた。上記疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータを集積しつつある。

D. 考察

前年度から引き続いて施行した、今回の文献調査等の結果から、本邦での皮膚科領域も含めた DC 診療の実態把握のためには、全国の皮膚科基幹診療施設に対する疫学調査を施行する必要があることが、さらに明らかになった。具体的には、本研究で行う DC 全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めることが重要と考えられる。

このような疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成するためには、本邦での皮膚科領域も含めた DC 診療の実態把握のための全国疫学調査を行う必要性が明白となった。具体的方法としては、本研究で行う DC 全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めることになる。現在、上記疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータを集積しつつある。

前年度からの情報収集、本年度の研究、調査の結果を詳細に検討すると、皮膚科領域での DC の遺伝子診断についても、体制を強化する必要性が浮き彫りとなった。DC の病因遺伝子変異検索を行っていただけの皮膚科以外の施設との連携システムを構築し、皮膚科領域での DC 患者につき、病因遺伝子変異検索を可能とするような努力が今後必要である。

E. 結論

先天性角化不全症 (DC) の皮膚科領域を含めた全国疫学調査の基礎となる情報を確立することを目的として、前年度から引き続き国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域における DC 診療の問題点を明らかにした。さらに、本年度は、本邦での皮膚科領域も含めた DC 診療の実態把握のための全国疫学調査に着手した。具体的には、本研究で行う DC 全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めて施行しつつある。この疫学調査の結果に基

づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータが集積されることが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Natsuga K, Shinkuma S, Kanda M, Suzuki Y, Chosa N, Narita Y, Setoyama M, Nishie W, Akiyama M, Shimizu H. Possible modifier effects of keratin 17 gene mutation on keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Br J Dermatol* (in press)
- 2) Kono M, Akiyama M, Kondo T, Suzuki T, Suganuma M, Wataya-Kaneda M, Lam J, Shibaki A, Tomita Y. Four novel *ADAR1* gene mutations in patients with dyschromatosis symmetrica hereditaria. *J Dermatol* (in press)
- 3) Kono M, Akiyama M, Suganuma M, Sanchez-Valle A, Tomita Y. Dyschromatosis symmetrica hereditaria by *ADAR1* mutations and viral encephalitis: a hidden link? *Int J Dermatol* (in press)
- 4) Sasaki K, Akiyama M, Yanagi T, Sakai K, Miyamura Y, Sato M, Shimizu H. CYP4F22 is highly expressed at the site and onset of keratinization during human skin development. *J Dermatol Sci* (in press)
- 5) Li Q, Frank M, Akiyama M, Shimizu H, Ho S-Y, Thisse C, Thisse B, Sprecher E, Uitto J. Abca12-Mediated Lipid Transport and Snap29-Dependent Trafficking of Lamellar Granules are Critical for Epidermal Morphogenesis in Zebrafish Disease Model of Ichthyosis. *Dis Model Mech* 4: 777-785, 2011.
- 6) Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Akiyama M. LEDGF/DFS70 activates the MK2/IL6/STAT3 pathway in HaCaT. *J Dermatol Sci* 63: 203-205, 2011.

- 7) Natsuga K, Akiyama M, Shimizu H. Malignant skin tumours in inherited ichthyosis patients. Br J Dermatol 165: 263-268, 2011
- 8) Yanagi T, Akiyama M, Nishihara H, Miyamura Y, Sakai K, Tanaka S, Shimizu H. AKT plays an anti-apoptotic role in ABCA12-deficient keratinocytes. J Invest Dermatol 131: 1942-1945, 2011.
- 9) Akiyama M. Updated molecular genetics and pathogenesis of ichthyoses. Nagoya J Med Sci 73: 79-90, 2011
- 10) Osawa R, Akiyama M, Izumi K, Ujiie H, Sakai K, Nemoto-Hasebe I, Yanagi T, Koizumi H, Shimizu H. Extremely severe palmoplantar hyperkeratosis in a generalized epidermolytic hyperkeratosis patient with a keratin 1 gene mutation. J Am Acad Dermatol 2011; 64: 991-993.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

骨髄不全におけるクローン性造血とテロメア長短縮の意義
研究分担者 中尾 眞二（金沢大学医薬保健研究域医学系細胞移植学 教授）

研究要旨： 再生不良性貧血（再不貧）や骨髄異形成症候群(MDS)などの骨髄不全における造血の質を評価するため、ヒトアンドロゲンレセプターアッセイを用いて、顆粒球におけるクローン性細胞集団（クロナリティ）の有無を決定するとともに、定量的 PCR を用いて白血球のテロメア長を測定した。HLA 遺伝子領域(6p)における片親性 2 倍体陽性・陰性例ではそれぞれ 100%、15%にクロナリティが検出された。しかし、クロナリティ陽性例であってもテロメア長の有意な短縮はみられなかった。テロメア長短縮が確認された再不貧例には治療抵抗例や MDS との境界例が多く含まれていた。以上より、骨髄不全におけるクロナリティの存在はテロメア長短縮とは相関しないが、テロメア長の短縮は再不貧の予後不良と関連している可能性が示唆された。

A. 研究目的

再生不良性貧血（再不貧）や低リスク骨髄異形成症候群（MDS）では、約 20%において顆粒球のクローン性細胞集団（クロナリティ）が検出されることが知られているが、クローン性造血を司る造血幹細胞の実態や、クロナリティと予後との関係は不明である。クローン性造血を呈する骨髄増殖性疾患（myeloproliferative disease, MPD）では、単一の造血幹細胞が増殖を繰り返すため、顆粒球のテロメア長が短縮していることが知られている。一方、最近のアメリカ国立衛生研究所の検討では、治療前のテロメア長が短縮している再不貧は MDS に移行する可能性が高いことが示された。したがって、クロナリティ陽性の再不貧でもテロメア長が短縮しており、それが予後不良と関係している可能性がある。そこで、再不貧と低リスク MDS 症例を対象としてヒトアンドロゲンレセプターアッセイ（HUMARA）により顆粒球のクロナリティを評価するとともに、定量的 PCR 法によりテロメア長を測定した。

B. 研究方法

クロナリティ解析は女性再不貧患者 27 人、女性

MDS 5 人、女性 MPD 8 人、女性健常者 60 人を対象とした一方、テロメア長測定は再不貧 35 人、MDS 8 人、MPD18 人、先天性角化不全症(dyskeratosis congenita DKC) 2 人を対象とした(Table1)。対照として健常者 44 人(年齢中央値 44,範囲 18-78)を検索した。クロナリティの検出は既報の HUMARA を、テロメア長の測定はリアルタイム PCR を用いて行った。

（倫理面への配慮）

クロナリティ解析およびテロメア長測定の研究計画については本学のヒトゲノム解析研究倫理審査委員会の審査を受け、承認を得た。また、患者からの採血は文書による同意を得た上で行った。

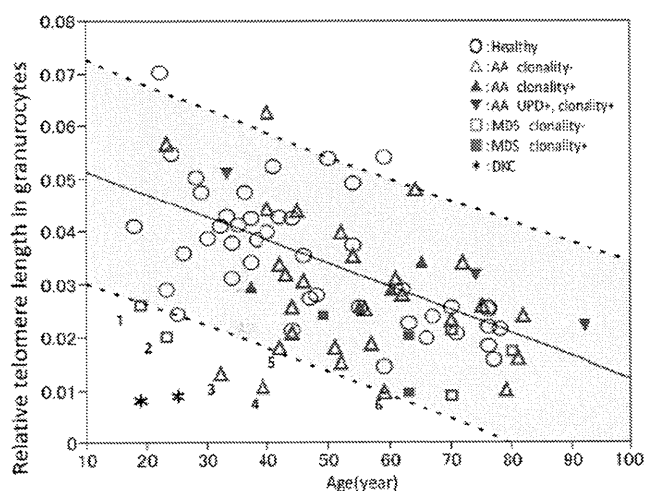
C. 研究結果

再不貧と MDS の女性例を対象としてクロナリティを検索したところ、それぞれ 27 例中 8 例(29%)、5 例中 4 例(80%)が陽性であった。一方、MPD8 例では全例が陽性であった。クロナリティ陽性再不貧 8 例のうち、3 例は、以前の SNP アレイによる検討により、第 6 染色体短腕（6p）の片親性 2 倍体のために HLA 領域の loss of heterozygosity (LOH)を来

している例であった。

骨髄不全における全年齢の相対的テロメア長は、顆粒球と T 細胞の両方で、健常対照と比較して有意に短縮していた(顆粒球 $P=0.0069$, T 細胞 $P=0.0170$)。しかし、60 歳未満と 60 歳以上に分けて比較すると、60 歳未満の骨髄不全患者では有意なテロメア長短縮がみられるのに対し、60 歳以上の例ではこのような短縮は確認されなかった。

図は全症例の顆粒球におけるテロメア長の分布を示している。健常者の各年齢層におけるテロメア長の分布より求めた正常参考範囲(平均値 $\pm 2SD$)を帯で示した。この範囲よりもテロメア長が短い例は計 8 例認められた。このうち 2 例はテロメア長短縮の陽性コントロールである不全型先天性角化症であり、その他の 6 例は MDS 2 例、再不貧 4 例であった。再不貧 4 例のうち 3 例はいずれも免疫抑制療法



無効の輸血依存例であり、残りの 1 例は再生不良性貧血と診断されていたが、実際には第 20 染色体のトリソミーを持つ MDS との境界例であった。一方、図で▲▼■印で示されるクロナリティ陽性例のテロメア長はすべて正常範囲内に分布していた。

D. 考察

今回の検討により、6pLOH が陽性であった女性患者 3 例の全例がクロナリティ陽性であったことから、再不貧で同定されてきたクローン性造血の一部は、6pLOH を起こした異常造血幹細胞による「エスケープ造血」で説明できることが示された。一方、クロナリティが証明された女性再不貧 8 例の中で 6pLOH が陽性であったのは 3 例のみ(38%)であるこ

とから、クロナリティ陽性例の約 6 割では、6pLOH 以外の何らかの異常造血幹細胞がクローン性造血に関与している可能性が考えられた。

PIG-A 遺伝子変異陽性幹細胞によるクローン性造血疾患の発作性夜間ヘモグロビン尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)では、PNH 形質顆粒球のテロメア長は非 PNH 形質顆粒球よりも短いことが示されている。したがって、HUMARA によりクロナリティが証明された骨髄不全患者では、テロメア長が短縮していることが予想された。実際に今回の検討では、造血幹細胞プールが縮小し、少数の造血幹細胞によって造血が維持されている再不貧では、健常者に比べて顆粒球のテロメア長が有意に短縮していた。しかし、クロナリティ陽性例におけるテロメア長は、同年齢の健常者と比べて明らかな短縮は認められなかった。したがって、骨髄不全患者ではクローン性造血状態であっても、テロメラーゼ活性の増強などの代償機構によってテロメア長が維持されていることが示唆された。

アメリカ国立衛生研究所の報告では、治療前のテロメア長が相対的に短縮している再不貧例では、テロメア長が保たれている例に比べて MDS に移行するリスクが高く、予後が悪いことが示されている。今回の検討でも、健常対照に比べてテロメア長が短縮している再不貧例の中に、MDS との境界例や、治療抵抗性の再不貧例が多く含まれていた。したがって、テロメア長の測定は再不貧の予後を推測する上で有用な可能性がある。

E. 結論

再不貧患者では、6pUDP 陽性クローン以外にも、未知の造血幹細胞異常によるクローン性造血が認められるが、このクローン性造血はテロメア長の短縮とは無関係であることが示された。また、テロメア長の短縮は造血能の低下や MDS への移行と関連している可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ohata K, Iwaki N, Kotani T, Kondo Y,

Yamazaki H, Nakao S. An Epstein-Barr Virus-Associated Leukemic Lymphoma in a Patient Treated with Rabbit Antithymocyte Globulin and Cyclosporine for Hepatitis-Associated Aplastic Anemia. *Acta Haematol* 2011;127:96-9.

- 2) Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K, Morishima S, Sato Y, Mori Y, Kato M, Sanada M, Morishima Y, Hosokawa K, Sasaki Y, Ohtake S, Ogawa S, Nakao S. Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia. *Blood* 2011;118:6601-9.
- 3) Takamatsu H, Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Saikawa Y, Yachie A, Koizumi S, Kojima S, Nakao S. Aplastic anemia successfully treated with rituximab: the possible role of aplastic anemia-associated autoantibodies as a marker for response. *Eur J Haematol* 2011;86:541-5.

2. 学会発表

Takamasa Katagiri, Aiko Sato-Otsubo, Koichi Kashiwase, Satoko Morishima, Yusuke Sato, Yuka Mori, Motohiro Kato, Masashi Sanada, Yasuo Morishima, Shigeki Ohtake, Seishi Ogawa, and Shinji Nakao

Frequent Loss of HLA Alleles From Hematopoietic Stem Cells in Patients with Hepatitis-Associated Aplastic Anemia. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2011; 118: 2407. 53rd Annual Meeting of American Society of Hematology. San Diego, December 10th, 2011

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

治療ガイドラインの検討及び立案

研究分担者 谷ヶ崎 博（日本大学小児科 助教）

研究要旨： 先天性角化不全症に対する代替ドナーからの造血幹細胞移植の成績は骨髄非破壊的前処置の導入により、有望な成績が得られている。本疾患では成人期に肺線維症や肝線維症を合併することが知られている。このため、移植後の長期的な観察が不可欠であり、症例の蓄積と長期的研究の体制整備を進める必要がある。

A. 研究目的

先天性角化不全症の治療ガイドラインの立案

B. 研究方法

先天性角化不全症に対する移植法を比較検討し、最適な移植時期、移植ドナーソース及び移植レジメンを決定する。

（倫理面への配慮）

移植後の長期フォローには、臨床検査値だけでなく、成長・発達、生活の質を含むデータの蓄積が必要になる。このため、ヘルシンキ宣言に基づいて本研究を進めるとともに、個人情報の保護を徹底する必要がある。

C. 研究結果

汎血球減少を示す先天性角化不全症に対して骨髄破壊的移植法を行った症例では、移植後の重症合併症が高率にみられている。このため、近年では骨髄非破壊的移植法が試みられるようになり、本邦でも海外でも有望な成績が報告されている。名古屋大学においても3例の先天性角化不全症患者に骨髄非破壊的移植法を用いて代替ドナーから造血幹細胞移植を行い、短期的には良好な移植成績が得られている。

D. 考察

先天性角化不全症では肺や肝臓の合併症の頻度が高いことを考慮すると、高用量の全身放射線照射やブズ

ルフアンなどの前処置薬の使用は回避することが望ましい。今後、骨髄非破壊的移植法を受けた場合の長期的な安全性と有効性の評価が不可欠であり、長期間の経過観察体制を整備することが必要である。

E. 結論

本疾患に特徴的な晩期合併症を回避するためには、最適な骨髄非破壊的前処置の確立が必要である。長期フォローの体制整備も併せて必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nishio N, Takahashi Y, Ohashi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kojima S. Reduced-intensity conditioning for alternative donor hematopoietic stem cell transplantation in patients with dyskeratosis congenita. *Pediatr Transplant.* 2011; 15(2): 161-166.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

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

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

表現型（造血不全と免疫不全）に基づいた診断法に関する研究

研究分担者 大賀 正一（九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 教授）

研究要旨： 先天性角化不全症（Dyskeratosis congenital: DKC）の患者には早期に正確な診断が必要である。自験例を臨床像、遺伝子解析、免疫学的解析、テロメア長測定などから検討した。早期に免疫不全と造血不全を呈する DKC の極型 Hoyeraal-Hreidarsson 症候群 (HHS) の患児と DKC が疑われる成人を対象とした。また疾患対照として早老症家系にテロメア長測定を検討した。新生児期から免疫・造血不全を呈する疾患群に対して、TORCH など周産期感染症、リボゾーム関連遺伝子、染色体不安定性など多面的アプローチによる診断法を検討している。

A. 研究目的

DKC は皮膚の網状色素沈着、爪の萎縮変形、粘膜白斑症に血球減少を伴う遺伝性骨髄不全症である。患者は悪性腫瘍を発症しやすく、テロメラーゼ複合体構成遺伝子群 (*DKC1*, *TERC*, *TERT*, *NOP10*, *NHP2*, *TINF2*, *TCAB1*) の異常が原因である。DKC の極型である HHS は、乳児期から細胞性免疫不全による易感染性を呈し、汎血球減少が進行する致死性疾患で、造血細胞移植法も確立していない。DKC/HHS の診断は難しく適切なスクリーニング法もないため、自験例から多面的に検討する。

B. 研究方法

DKC/HHS を疑う患者について免疫不全症および造血不全症の解析、テロメア長の測定 (Flow-FISH 法 名古屋大小児科 小島勢二教授)、遺伝子解析を行い、その鑑別法について検討した。

(倫理面への配慮)

倫理委員会の審査をうけ同意書を取得し、遺伝子解析結果を含めた個人情報の守秘を厳守して本研究を進める。

C. 研究結果

新生児期から免疫不全と貧血を呈した症例1と2、

乳児期から皮膚角化症と成長障害をきたした症例3、再生不良性貧血と皮膚硬化症の成人症例4について、DKC 関連疾患を疑い解析した。症例1は鳥様顔貌と小頭症の男児で、汎血球減少と複合型免疫不全症のため非血縁臍帯血移植を行い造血・免疫不全は軽快した。骨折を繰り返し観察中で、原因遺伝子は確定できていない。症例2は小頭症、貧血、発達遅滞、易感染性のある男児で2歳のときニューモシスチス肺炎をおこした。相対テロメア長は6.5とDC/*TERT*異常相当に低かったが、*DKC1*, *NOP10*など解析した複数の遺伝子に変異は同定されない。重症感染は予防できたが輸血依存となり造血細胞移植を計画している。症例3は乳児期から強皮症と診断され、成長障害と皮膚硬化が進行した鳥様顔貌の9歳男。貧血はなく、血小板は増多傾向で脳梗塞を発症した。Lamin 遺伝子のexon11にG608G (GGT>GGC) hetero変異が同定された。末梢血テロメア長異常は家族にも認めなかった。Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome (HGPS)と診断した。症例4は、皮膚科にてCole-Engman症候群を疑われた50歳女性。舌白斑、爪形成異常、貧血（再生不良性貧血の血縁者有）を呈したが、*TERC/TERT*に変異なく、テロメア長にも異常なかった。

D. 考察

造血不全と免疫不全を合併する小児には、リンパ球減少と皮膚粘膜異常に注意し、テロメア長測定の結果から解析遺伝子を検討することが効率的である。症例を集積し、DKC関連疾患の診断システムを構築するとともに、輸血療法と造血細胞移植法について検討したい。

E. 結論

免疫と造血の発生に関わる共通の分子遺伝学的欠陥に起因する遺伝性造血/免疫不全症の診断には、DKC関連疾患を疑ってテロメア長測定をスクリーニングに組み込むことが有用であろう。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kamio T, Ito E, Ohara A, Kosaka Y, Tsuchida M, Yagasaki H, Mugishima H, Yabe H, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Hama A, Kaneko T, Nagasawa M, Kikuta A, Osugi Y, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S: Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy. *Haematologica* 96(6):814-9, 2011
- 2) Kitajima J, Inoue H, Ohga S, Kinjo T, Ochiai M, Yoshida T, Kusuhara K, Hara T: Differential transmission & postnatal outcome in triplets with congenital CMV infection. *Pediatr Develop Pathol* (in press)
- 3) 北島順子、金城唯宗、大賀正一、落合正行、井上普介、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巻 103-11, 2011

2. 学会発表

土居岳彦、瀧本智仁、白石暁、石村匡崇、高田英俊、原寿郎、大賀正一: Hoyeraal-Hreidarsson症候群の1. 第5回日本免疫不全症研究会
2012.1.21 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし