

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

造血幹細胞移植プロトコールの立案

研究分担者 矢部 普正（東海大学医学部再生医療科学 准教授）

研究要旨： 重症再生不良性貧血を呈した3例の先天性角化不全症に対して、非血縁者間骨髄移植を施行した。移植前処置は放射線胸腹部照射、フルダラビン、シクロフォスファミド、ウサギ抗胸腺細胞グロブリンで行い、GVHD予防は短期メソトレキセートとタクロリムスの併用で行った。3例とも生着し、移植後それぞれ13ヶ月、18ヶ月、10年を経て生存中である。移植後10年を経過した例では肺線維症の合併を認めていない。

A. 研究目的

先天性角化不全症（DKC）に対する同種造血細胞移植においては、粘膜の脆弱性から感染症やGVHDが重症化しやすく、また長期生存例では肺線維症などの合併で良好なQOLの維持が困難とされている。本研究では非血縁ドナーなど、代替ドナー移植を含めて、移植成績の向上と長期QOLの維持を目指した移植方法の確立を目的とする。

B. 研究方法

シクロフォスファミド（CY）の大量投与は肺線維症を起こす可能性が示唆されており、放射線も同様に二次性肺炎の誘因になることから、この両者を減量した前処置を開発した。すなわち、肺を遮蔽した放射線胸腹部照射（TAI）3Gy、フルダラビン（Flu）25 mg/m²を4日間、CY 750 mg/m²を4日間、ウサギ抗胸腺細胞グロブリン（ATG）1.25 mg/kgを4日間で行い、GVHD予防は短期メソトレキセート（MTX; 15 mg/m², +1 day, 10 mg/m², +3, +6, +11 day）とタクロリムス（FK506; 0.03 mg/kg/day 持続点滴）の併用で行った。

（倫理面への配慮）

移植についてのインフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行い、文書での同意を得た。

C. 研究結果

対象は、9歳女児、6歳男児、5歳女児の3例で、全例で皮膚の網状色素沈着、爪の萎縮、舌の白板を認め、2例でテロメアの短縮を確認したが、DKCの遺伝子変異は1例も証明できなかった。移植細胞はいずれも非血縁骨髄で、HLAは6/6一致、HLA-DRB1不一致、HLA-DR血清型不一致がそれぞれ1例であった。前処置毒性は軽度で速やかな生着が得られ、急性GVHDはgrade 0、grade I、grade IIがそれぞれ1例、慢性GVHDは1例に限局型を認めた。全例で造血機能は正常化し、それぞれ移植後13ヶ月、18ヶ月、10年を経て生存中である。爪の萎縮は進行しているが、舌の白板は3例とも消失した。移植後10年を経過した例では肺CTで線維化を認めず、呼吸機能も正常を維持しているが、毛髪の減少と蛋白尿を認めており、今後の経過観察が必要である。

D. 考察

先天性角化不全症はいわゆるテロメア病の一型として、その病態は骨髄不全にとどまらず、皮膚、爪、粘膜を始め、肺や肝臓などの内臓にも及ぶ可能性がある。造血幹細胞移植は移植前処置やGVHDなど、全身諸臓器に影響のある治療法であり、特に慢性GVHD合併例では移植後のQOLの維持が困難であるという意見もある。当科では1986年に国内最初のDKCに対する同胞間骨髄移植を施行し、順調に

経過していたが、移植後7年で肺線維症を合併して死亡したことから、低線量放射線照射における肺の遮蔽とCYの減量を基本に、移植前処置の開発に取り組んできた。今回、3例の非血縁骨髄移植が成功し、1例は移植後10年を経過して肺線維症を認めず、本前処置はDKCに対する代替ドナー移植において有用であることが示された。しかしながら、蛋白尿を認めるなど、今後も全身的評価を継続して造血幹細胞移植の有用性を明らかにしく必要がある。

E. 結論

DKCに対する肺遮蔽TAI (3Gy)、Flu (25 mg/m²を4日間)、CY (750 mg/m²を4日間)、ATG (1.25 mg/kgを4日間)による移植前処置は非血縁骨髄移植においても有用であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hyodo H, Ishiguro H, Yabe H, et al. Decreased serum testosterone levels in long-term adult survivors with fatty liver after childhood stem cell transplant. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2012 Jan 13. [Epub ahead of print]
- 2) Koike T, Yanagimachi N, Yabe H, et al. High Incidence of Radiation-Induced Cavernous Hemangioma in Long-Term Survivors Who Underwent Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Radiation Therapy during Childhood or Adolescence. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Dec 23. [Epub ahead of print]
- 3) Mynarek M, Tolar J, Yabe H, et al. Allogeneic hematopoietic SCT for alpha-mannosidosis: an analysis of 17 patients. *Bone Marrow Transplant*. 2011 May 9. [Epub ahead of print]
- 4) Maekawa K, Yoshimitsu M, Yabe H et al. Successful allo-HSCT with a minimal myeloablative conditioning regimen in an adult patient with Fanconi's anemia. *Bone Marrow Transplantation*, 2011; doi: 10.1038/bmt.201
- 5) Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, et al. Acceptable HLA-mismatching in unrelated donor bone marrow transplantation for patients with acquired severe aplastic anemia. *Blood*. 2011; 118(11): 3186-3190.
- 6) Yabe M, Shimizu T, Yabe H, et al. Alternative donor marrow transplantation in children with aplastic anemia using low-dose irradiation and fludarabine-based conditioning. *Bone Marrow Transplant*. 2011; 46(8): 1148-1150.
- 7) Kamio T, Ito E, Yabe H, et al. Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. *Haematologica*. 2011; 96(6): 814-819.
- 8) Yoshida N, Yagasaki H, Yabe H, et al. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica*. 2011; 96(5): 771-774.
- 9) Suzuki D, Yabe M, Yabe H, et al. Precursor-T lymphoblastic lymphoma after unrelated bone marrow transplantation in a patient with Fanconi anemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2011; 33(1): 22-24.
- 10) Yabe M, Morimoto T, Yabe H, et al. Therapy-related myelodysplastic syndrome of recipient origin in a juvenile myelomonocytic leukemia patient 17 years after allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46(7): 1023-1025.
- 11) Tomita Y, Yabe H, Yabe M, et al. High incidence of fatty liver and insulin resistance in long-term adult survivors of childhood SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2011; 46(3): 416-425.

- 12) Imaizumi M, Yabe H, Horibe K, et al. Prospective study of a therapeutic regimen with all-trans retinoic acid and anthracyclines in combination of cytarabine in children with acute promyelocytic leukaemia: the Japanese childhood acute myeloid leukaemia cooperative study. *Br J Haematol* 2011; 152(1): 89-98.
2. 学会発表
- 1) Yabe H, Koike T, Ootsubo K, Morimoto T, Shimizu T, Takakura H, Kato S and Yabe M. Endocrine function in Japanese Fanconi anemia patients. 23rd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. October 2011, Barcelona, Spain.
- 2) Yabe M, Yabe H, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Ootsubo K and Kato S. Clonal chromosomal aberration in Fanconi anemia patients with myelodysplasia. 23rd Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. October 2011, Barcelona, Spain.
- 3) Yabe H on behalf of the Stem Cell Transplantation Committee of Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG), Tokyo, Japan. Intensified conditioning with total-body irradiation, etoposide, and cyclophosphamide for children with acute lymphoblastic leukemia in first and second complete remission. 37th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. April 2011, Paris, France.
- 4) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H and Kato S. Experience with marrow harvesting from paediatric donors at a single center: safety and efficacy. 37th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, April 2011 Paris, France.
- 5) 矢部普正、笹原洋二、佐藤 貴、今井千速、石田宏之、大杉夕子、小池和俊、井上彰子、今井正、石井栄三郎、小島勢二、小児再生不良性貧血治療研究会 再生不良性貧血に対する骨髄移植後にドナータイプの造血不全を呈した 18 例 第 33 回日本造血細胞移植学会総会 2011.3 松山
- 6) Yabe H, Adachi S, Oota H, Honda Y, Shiomi M, Fujita N, Niizuma H, Kato K. Engraftment depends on the schedule of fludarabine and melphalan in reduced-intensity CBT. 第 73 回日本血液学会総会 2011. 10 名古屋
- 7) Yabe M, Yabe H, Shimizu T, Morimoto T, Koike T, Takakura H, Mori T, Yoshida H, Ohtsuka Y, Shiomi M and Kato S. Alternative donor hematopoietic stem cell transplantation in inherited bone marrow failure syndrome. 第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年 10 月 名古屋.
- 8) Koike T, Yanagimachi N, Yabe H, Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Ishiguro H, Takakura H, and Kato S. Radiation induced cavernous hemangioma (RICH) in long-term survivors who underwent BMT. 第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年 10 月 名古屋.
- 9) Ishiguro H, Hyodo H, Tomita Y, Takakura H, Koike T, Shimizu T, Morimoto T, Yabe H, Yabe M and Kato S. Decreased testosterone levels in long-term adult survivors with fatty liver after childhood SCT. 第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年 10 月 名古屋.
- 10) 矢部みはる、矢部普正. リバージョン・モザイク型 Fanconi 貧血の診断と臨床. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会シンポジウム. 2011 年 11 月 前橋
- 11) 大坪慶輔、清水崇史、小林真弓、高倉広充、森本克、松田晋一、神園淳司、矢部みはる、矢部

普正、加藤俊一. 著明な心機能低下を認めた再発 AML に対して 2 度の臍帯血移植を施行した一男児例. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会.2011 年 11 月 前橋

- 12) 小林真弓、高倉広充、大坪慶輔、小池隆志、清水崇史、森本克、矢部みはる、矢部普正、加藤俊一. Minor bcr-abl が検出された急性巨核球形白血病の一例. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会シンポジウム.2011 年 11 月 前橋

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働省科学研究費補助金（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

テロメア長の短縮を認めた Diamond-Blackfan 貧血の 1 例
分担研究者 金兼 弘和（富山大学附属病院小児科 講師）

研究要旨： Diamond-Blackfan 貧血は原因不明の先天性赤芽球癆であり、さまざまな先天奇形を伴う。その原因は未だ不明のものも多いが、*RPS19* 遺伝子をはじめとするリボソーム関連遺伝子とされる。約半数はプレドニゾロンに反応するが、根治療法は造血幹細胞移植である。血縁者間同種骨髄移植を行った Diamond-Blackfan 貧血の患者から移植前に樹立されたリンパ芽球様細胞株についてテロメア長の測定を行ったところ、正常対照に比べて短縮を認めた。Diamond-Blackfan 貧血と先天性角化不全症の類似性を考える上で興味深い症例であり、ここに報告する。

A. 研究目的

Diamond-Blackfan 貧血 (DBA) は原因不明の先天性赤芽球癆であり、顔面・頭部、上肢・手、泌尿器などにさまざまな先天奇形を伴うことが多い。その原因として *ribosome19S* (*RPS19*) 遺伝子をはじめとするリボソーム関連遺伝子が同定されているが、未だ原因不明も数多く存在する。治療は半数以上がプレドニゾロンに反応するが、プレドニゾロン依存性や輸血依存性で治療に難渋することが多い。根治療法は造血幹細胞移植である。一方先天性角化不全症 (DKC) は多形皮膚・粘膜萎縮、萎縮爪、白斑症および骨髄不全を伴う稀な先天性疾患であり、その原因は *DKC1* を初めとするテロメア関連遺伝子であり、ほぼ全例でテロメア長の短縮を伴う。今回当科で血縁者間同種骨髄移植を行った Diamond-Blackfan 貧血の患者から移植前に樹立したリンパ芽球様細胞株 (LCL) を用いて DBA ならびに DKC に関する原因検索を行った。

B. 研究方法

症例は現在 13 歳である。在胎 40 週、新生児仮死で出生し、胎便吸引症候群、新生児遷延性肺高血圧

症のため NICU に入院歴あり。その際に翼状頸、リンパ浮腫、欠指・合指症、虹彩癒着、角膜混濁などの多発奇形を指摘された。1 歳 2 か月時に不機嫌、多呼吸・呻吟、全身の強直を認め、緊急入院となった。入院時、Hb 2.2g/dl と重度の貧血を認めたが、白血球数、血小板数は正常であった。骨髄検査で M/E 比は 15.3 であり、赤芽球系細胞はほとんど認められず、先天性赤芽球癆 (DBA) と診断した。以後ステロイド、シクロスポリン内服にて、ほとんど輸血の必要なく経過観察していた。7 歳頃より 1-2 か月に 1 回の頻度で輸血を要するようになり、8 歳時に HLA 一致同胞から同種骨髄移植を行った。前処置は BU 8mg+TAI 3Gy+Flu+CY+ATG で行い、GVHD 予防は CyA+mPSL で行った。移植後 11 日で生着を認め、グレード II の急性 GVHD を認めたのみで、移植後 54 日に退院した。

患者家族の同意を得て移植前に患者末梢血から E-細胞を分離し、EB ウイルスでトランスフォームし不死亡した LCL を樹立し、-80℃で保存した。

LCL を用いてアレイ CGH、リボソーム関連遺伝子解析、テロメア関連遺伝子、Flow-FISH 法によるテロメア長について解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト検体を用いて解析を行うものであり、検体量および採取時の苦痛には十分な配慮を行った。遺伝子解析については各種指針を遵守して、患者個人情報保護について十分な配慮を行った。

C. 研究結果

アレイ CGH 解析では明らかな欠失は認められなかった。これまで DBA ならびに DKC の原因として報告されているリボゾーム関連遺伝子解析ならびにテロメア関連遺伝子の解析を行ったが、変異は認められなかった。

Flow-FISH 法でテロメア長の測定を行ったところ、同年齢の正常対照に比べてテロメア長の短縮が認められた (図 1)。

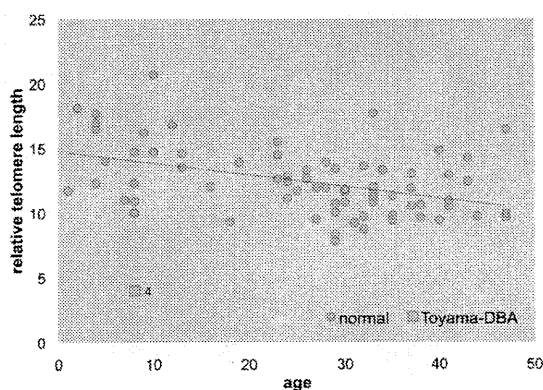


図 1 Flow-FISH 法によるテロメア長
□は患者における相対的テロメア長を示す。

D. 考察

臨床的に DBA と診断されていた患者についてリボゾーム関連遺伝子解析を行ったが、変異は同定できなかった。しかし Flow-FISH 法でテロメア長の短縮が観察され、患者はむしろ DKC であったと考えられる。DBA ならびに DKC は広く先天性骨髄不全症候群に分類されるが、DKC で認められる造血異常は再生不良性貧血や骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病であり、先天性赤芽球癆は稀である。しかし DBA と DKC と区別しがたいような症例も存在するため、テロメア長の測定ならびに原因遺伝子の検索は重要と思われる。

E. 結論

DBA と臨床診断されていた患者でテロメア長の短縮を認め、DKC と考えられる。しかしこれまで報告されているテロメア関連遺伝子解析では変異が同定されておらず、今後は whole exome sequencing 等による網羅的遺伝子解析によって原因遺伝子の同定を行う予定である。

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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧

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
小島勢二、嶋田明、高橋義行、西尾信博	先天性角化不全症 診療の参照ガイド (平成22年度版)	小澤敬也 (研究代表者)	特発性造血障害疾患の診療の参照ガイド 平成22年度改訂版		栃木	2011	225-236

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
Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Morishima Y, Kodera Y.	Acceptable HLA-mismatching in unrelated donor bone marrow transplantation for patients with acquired severe aplastic anemia.	Blood	118	3186-90	2011
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; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group.	Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group.	Haematologica	96	814-9	2011
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	96	771-4	2011
Kojima S, Nakao S, Young N, Bacigalupo A, Gerard G, Hirano N, Maciejewski J, Deeg J, Marsh J, Zhang FK, Lee JW, Ozawa K.	The Third Consensus Conference on the treatment of aplastic anemia.	Int J Hematol.	93	832-7	2011
Yokoyama T, Toki T, Aoki Y, Park MJ, Kanno Y, Tanaka T, Yamazaki Y, Ito E, Hayashi Y, Nakamura T.	Identification of <i>TRIB1</i> R107L gain-of-function mutation in human acute megakaryocytic leukemia.	Blood		In press	2012
Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, RuNan Wang, 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.	Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia.	Blood		In press	2012
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	
Fukuda S, Hamada T, Ishii N, Sakaguchi S, Sakai K, Akiyama M, Shimizu H, Masuda K, Izu K, Teye K, Tsuruta D, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T.	Novel ATP-binding cassette, subfamily A, member 12 (ABCA12) mutations associated with congenital ichthyosiform erythroderma.	Br J Dermatol	166	218-21	2012

Natsuga K, Akiyama M, Shimizu H.	Malignant skin tumours in inherited ichthyosis patients.	Br J Dermatol	165	263-8	2011
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	118	6601-9	2011
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.	Pediatric Transplantation	15 (2)	161-6	2011
Hyodo H, Ishiguro H, Yabe H, et al.	Decreased serum testosterone levels in long-term adult survivors with fatty liver after childhood stem cell transplant.	Biol Blood Marrow Transplant		In press	2012
Koike T, Yanagimachi N, Yabe H, et al.	High Incidence of Radiation-Induced Cavernous Hemangioma in Long-Term Survivors Who Underwent Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Radiation Therapy during Childhood or Adolescence.	Biol Blood Marrow Transplant		In press	2011
Booth C, Gilmour KC, Veys P, Gennery AR, Slatter MA, Chapel H, Heath PT, Steward CG, Smith O, O'Meara A, Kerrigan H, Mahlaoui N, Cavazzana-Calvo M, Fischer A, Moshous D, Blanche S, Pachlopnik-Schmid J, Latour S, de Saint-Basile G, Albert M, Notheis G, Rieber N, Strahm B, Ritterbusch H, Lankester A, Hartwig NG, Meyts I, Plebani A, Soresina A, Finocchi A, Pignata C, Cirillo E, Bonanomi S, Peters C, Kalwak K, Pasic S, Sedlacek P, Jazbec J, Kanegane H, Nichols KE, Hanson IC, Kapoor N, Haddad E, Cowan M, Choo S, Smart J, Arkwright PD, Gaspar HB.	X-linked lymphoproliferative disease due to SAP/SH2D1A deficiency: a multicenter study on the manifestations, management, and outcome of the disease.	Blood	117	53-62	2011
Pachlopnik Schmid J, Canioni D, Moshous D, Touzot F, Mahlaoui N, Hauck F, Kanegane H, Lopez Granados E, Mejstrikova E, Pellier I, Galicier L, Galambrun C, Barlogis V, Bordigoni P, Fourmaintraux A, Hamidou M, Dabadie A, Le Deist F, Haerynck F, Ouachée-Chardin M, Rohrlich P, Stephan JL, Lenoir C, Rigaud S, Lambert N, Milili M, Schiff C, Chapel H, Picard C, de Saint Basile G, Blanche S, Fischer A, Latour S.	Clinical similarities and differences of patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (XLP-1/SAP-deficiency) versus type 2 (XLP-2/XIAP-deficiency).	Blood	117	1522-9	2011
Yang X, Kanegane H, Nishida N, Imamura T, Hamamoto K, Miyashita R, Imai K, Nonoyama S, Sanayama K, Yamaide A, Kato F, Nagai K, Ishii E, van Zelm MC, Latour S, Zhao X-D, Miyawaki T.	Clinical and genetic characteristics of XIAP deficiency in Japan.	J Clin Immunol		In press	

IV. 研究成果の刊行物・別刷り

先天性角化不全症

診療の参照ガイド（平成 22 年度版）

先天性角化不全症の診断基準と診療の参照ガイド
作成のためのワーキンググループ

【メンバー】

小島 勢二	名古屋大学大学院医学研究科小児科
嶋田 明	名古屋大学大学院医学研究科小児科
高橋 義行	名古屋大学大学院医学研究科小児科
西尾 信博	愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部

厚生労働省科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
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
研究代表者 小島勢二

平成 23 年（2011 年） 3 月

1. 緒 言	229
2. 診 断	229
1) 疾患概念	229
2) 診断基準	229
3) 重症度分布	230
4) 診断のフローチャート	231
5) 鑑別診断	231
3. 疫 学	231
1) 発生頻度	231
2) 自然歴・予後	231
4. 病因・病態	232
5. 臨床症状、検査所見	233
6. 治療法・治療指針	233
7. 問題点・将来展望	233
参考文献	234

1. 緒言

先天性角化不全症 (Dyskeratosis congenita ; DC) は、爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着を3徴とする先天性造血不全症候群である。DC患者ではこれらの古典的症状を併せ持つ典型例以外にも、多彩な全身症状を呈する例から血球減少のみの例まで多彩な臨床像を示すため、しばしば臨床診断は困難である¹⁾。近年、低身長、小脳低形成、小頭症、網膜症などを伴い、独立した疾患と考えられてきたHoyeraal-Hreidarsson症候群、Revesz症候群において、DCと同じ遺伝子変異がみられる事が明らかとなった。さらに、近年の遺伝子変異のスクリーニングにより、特発性再生不良性貧血患者や特発性肺線維症と考えられていた患者のなかに、本症の不全型が含まれている事が明らかにされた²⁻⁴⁾。

本症における死亡原因としては造血不全が最も高く、60~70%を占める^{6,7)}。骨髄不全に対する治療として唯一治癒が期待できるのは造血幹細胞移植である。DC患者では治療関連毒性が強く、従来の骨髄破壊的前処置を用いた治療成績は非常に不良であったが、近年の骨髄非破壊的前処置を用いた移植では、治療関連毒性を軽減しつつ良好な生着が得られたとする報告が相次いでいる。しかし、DCは極めてまれな疾患であり、治療研究として得られている情報はきわめて乏しい。

このような事から、海外のデータをもとに我が国のDC患者に対し現時点で最も推奨されると思われる診療ガイドラインを作成した。

2. 診断

1) 疾患概念 (図1)

テロメア長の維持機能の障害を背景とし、主に皮膚、爪、口腔粘膜に特徴的な所見を有する遺伝性骨髄不全症候群である。DCは古典的なDCの他に図に示すような最重症型であるHoyeraal-Hreidarsson症候群、Revesz症候群の他、不全型である再生不良性貧血や家族性肺線維症などが存在する。これらの疾患は病像が異なるものの、共通してテロメア長の短縮や、テロメア関連遺伝子の変異がみられることから、一連の疾患と考えられている。

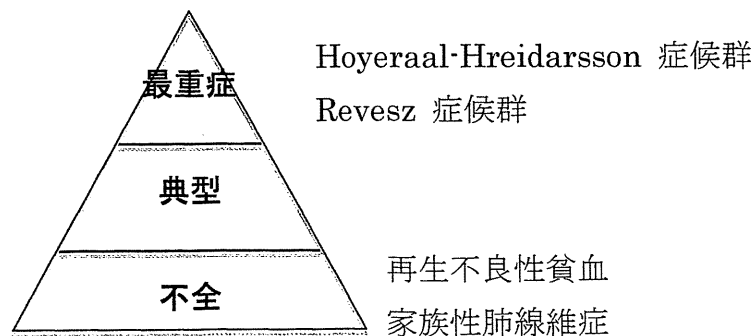


図1 先天性角化不全症の病型

2) 診断基準

爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着などの身体的特徴、汎血球減少がそろっている場合には臨床症状は比較的容易であろうと思われる。しかし、実際にはこれらの身体的特徴がそろわない場合も多く、また症状は多彩かつ重度のものから軽微なものまでであるため、そのような患者での診断は臨床症状のみからでは困難である。血球減少、悪性疾患、肺線維症、肝疾患、免疫不全、若年の白髪などの家族歴にも注意すべきである。現在提唱されている診断基準を表1に示す^{8,9)}。診断のための検査として、末梢血を用いたFlow-FISHま

たはサザンプロットイングによるテロメア長測定は、簡便で有用である。他の骨髄不全症候群でも時にテロメア長短縮をきたすことがあるため注意が必要であるが、DC患者のテロメア長は他の骨髄不全症候群より特に短縮していることが特徴である^{10,11)}。

表1 先天性角化不全症の診断基準

A.	骨髄不全症
	一系統以上の血球減少と骨髄低形成を認める
B.	大症状（皮膚、粘膜所見）
	1. 網状色素沈着
	2. 爪の萎縮
	3. 口腔粘膜白斑症
C.	小症状（その他の身体所見）
	1. 頭髪の喪失、白髪
	2. 歯芽の異常
	3. 肺病変
	4. 低身長、発育遅延
	5. 肝障害
	6. 食道狭窄
	7. 悪性腫瘍
	8. 小頭症
	9. 小脳失調
	10. 骨粗鬆症

狭義な意味での先天性角化不全症は以下の場合に診断する。
骨髄不全および1つ以上の大症状と2つ以上の小症状を満たす

先天性角化不全症の亜型であるHoyeraal-Hreidarsson syndromeやRevesz syndrome、上記の大症状や小症状を伴わない再生不良性貧血、肺線維症は“テロメア病”として広義の意味では先天性角化不全症の類縁疾患であるが、上記の診断基準は適用されない。

3) 重症度分類

疾患の重症度としては、概念図を参照されたい。骨髄不全の重症度としては、再生不良性貧血の重症度分類（表2）に準じる。

表2 重症度分類（平成16年度修正）

stage 1	軽症	下記以外
stage 2	中等症	以下の2項目以上を満たす 網赤血球 60,000/μL 未満 好中球 1,000/μL 未満 血小板 50,000/μL 未満
stage 3	やや重症	以下の2項目以上を満たし、定期的な赤血球輸血を必要とする 網赤血球 60,000/μL 未満 好中球 1,000/μL 未満 血小板 50,000/μL 未満
stage 4	重症	以下の2項目以上を満たす 網赤血球 20,000/μL 未満 好中球 500/μL 未満 血小板 20,000/μL 未満
stage 5	最重症	好中球 200/μL 未満に加えて、以下の1項目以上を満たす 網赤血球 20,000/μL 未満 血小板 20,000/μL 未満

注1 定期的な赤血球輸血とは毎月2単位以上の輸血が必要なときを指す。

注2 この基準は平成10(1998)年度に設定された5段階基準を修正したものである。

4) 診断のフローチャート (図2)

特徴的な身体的異常、骨髄不全、家族歴などからDCが疑われる場合には、末梢血を用いてFlow-FISHまたはサザンブロッティングを用いた血球テロメア長測定を行う。また、身体的特徴を有さない再生不良性貧血患者のなかにも、テロメア長の短縮とテロメア関連遺伝子の異常を有する患者がいることがあきらかになっているため、再生不良性貧血患者に対しては、診断時にテロメア長測定を行う事が望ましい。我が国では検査会社でこのような検査は行っていないため、検査が行える施設に問い合わせた検査を依頼する。特徴的な身体所見があり、テロメア長の著明な短縮が証明できれば診断が確定する。遺伝子診断は男性であればDKC1の変異解析を行う。DKC1に変異がない男性患者、または女性であればそれ以外の遺伝子変異について解析を進めるが、既知の遺伝子異常は約半数にしか見られない。

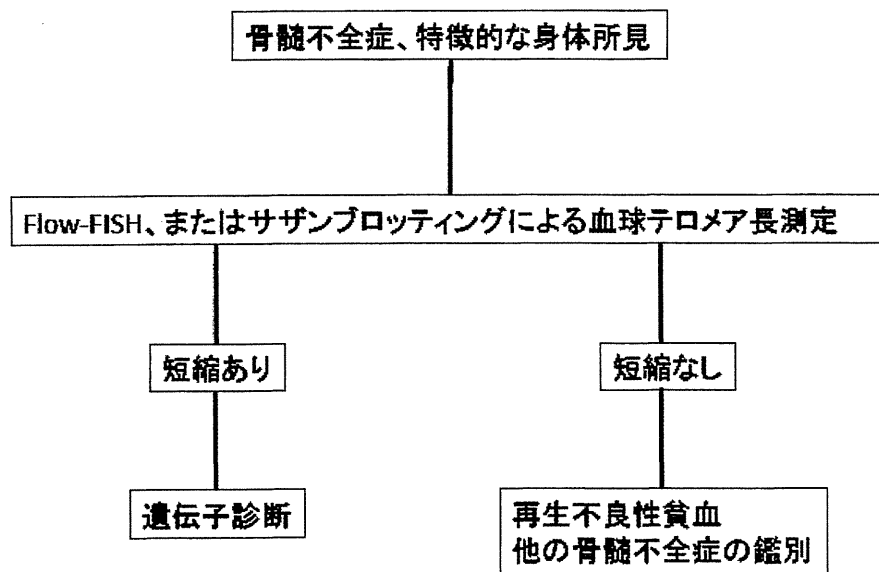


図2 診断のフローチャート

5) 鑑別診断

身体的異常を伴う骨髄不全症として、Fanconi貧血、Schwachman-Diamond症候群、先天性無巨核芽球性血小板減少症、Pearson症候群などの疾患を鑑別する必要がある。それぞれ特徴的な臨床像があるのでまず臨床像から鑑別していくが、疾患特異的な検査所見や、遺伝子診断もできるようになってきている。

3. 疫学

1) 発生頻度

我が国における患者数についてpublishされたものはないが、海外の登録事業からすると、発症頻度は100万人に1人とされる¹²⁾。

2) 自然歴・予後

典型例では身体的異常は幼少期から出現する。爪の萎縮と皮膚色素沈着が10才までに出現し、20才までに骨髄不全が出現し、30才までには90%の症例が骨髄不全を発症する¹³⁾。しかし、症状の種類や、発症時期については患者間で異なり、骨髄不全が初発症状であったり、爪の変化や皮膚色素沈着が重度であっても骨髄不全をきたさないような症例もある。死因としては骨髄不全／免疫不全が60～70%、肺線維症が10～15%、

悪性疾患が10%とされている¹⁴⁾。最近の報告では、生存年齢の中央値は49才とされている¹⁾。

4. 病因・病態

DC患者細胞のテロメア長は著明に短縮しており、テロメア長の維持機能の障害が疾患の病因であると考えられている。テロメアは染色体末端のTTAGGG繰り返し配列で、細胞分裂時に起こる染色体の融合や再構成を防いでいる。テロメアの摩耗した細胞では染色体の不安定性が惹起され、アポトーシスに陥る。そのために細胞増殖が盛んな皮膚、骨髄などの組織が高率に犯されるものと考えられている¹⁵⁻¹⁸⁾。図3に示すように、テロメラーゼ複合体、shelterinという2つの重要なコンポーネントが、正常なテロメア長の維持の役割を担っている。テロメラーゼ複合体はRNAコンポーネントであるTERCを鋳型とし、TERTの逆転写酵素活性によりテロメアを伸長する。shelterinは物理的にテロメアの安定性に関与していると考えられている。現在までにテロメラーゼ複合体をコードする遺伝子のうち、*DKC1*¹⁹⁾、*TERC*¹⁷⁾、*TERT*^{8,20,21)}、*NOP10*²²⁾、*NHP2*²³⁾が、またshelterinの重要なコンポーネントであるTIN2をコードする*TINF2*^{24,25)}の遺伝子異常が明らかとなっている(表3)。

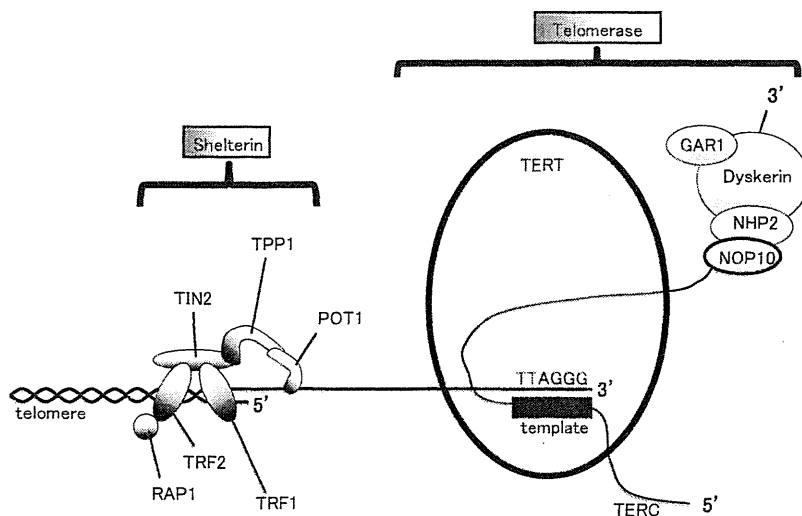


図3 テロメラーゼ複合体の構造

表3 先天性角化不全症の原因遺伝子

遺伝子名	染色体上の位置	RNA	アミノ酸	機能	遺伝形式*	頻度
<i>DKC1</i>	Xq28	1545nt	514aa	rRNAの pseudouridination テロメラーゼ複合体の安定化 TERTの発現抑制	XR	30%
<i>TERC</i>	3q26.2	451nt	翻訳されない	テロメア複製の鋳型	AD	~5%
<i>TERT</i>	5p15.33	3399nt	1132aa	テロメアDNAの合成酵素	AD>AR	~5%
<i>NHP2</i>	5q35.3	462nt	153aa	テロメラーゼ複合体の安定化	AR	稀
<i>NOP10</i>	15q14-q15	195nt	64aa	テロメラーゼ複合体の安定化	AR	稀
<i>TINF2</i>	14q12	1065nt	354aa	テロメア末端の保護	AD	~11%

* 孤発例の場合も多く、必ずしも遺伝形式を特定できない。

XR : X連鎖劣性、AD : 常染色体優性、AR : 常染色体劣性

5. 臨床症状

爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着が3徴であるが、その他にも診断基準に示すように全身性に異常をきたす。これらの症状の出現時期は年齢に依存し、出現後は通常年齢をおって重症度が増していく。悪性疾患は通常20～40才台に出現する。DC患者では健常人に比較して11倍の罹患率とされる²⁶⁾。扁平上皮癌、骨髄異形成症候群、骨髄性白血病の頻度が高い。

6. 治療法・治療指針

DCに対する根本的な治療法はないため、合併症に対するサポートが中心となる。骨髄不全に対する治療としては、再生不良性貧血の重症度分類による中等症の症例に対してはダナゾールなどの蛋白同化ホルモンを投与する。蛋白同化ホルモンの投与により、約半数の患者で一時的な血液学的反応がみられることがある。血液学的反応がみられるまでに2-3ヶ月を要する事もある。副作用としては、肝障害、男性化、気分の変容などがあり、これらの症状が出ないように投与量を調節する。

重症と判断される場合には、現時点では造血幹細胞移植が唯一の治療である。しかしながら、DCは極めて稀な疾患であるため、過去の報告は極めて少ない。過去の報告から、骨髄破壊的前処置の治療成績は極めて不良で、21例中14例が死亡しており、特に非血縁ドナーからの移植での生存者はない^{14,27)}。Alterらの過去の文献を含めたすべての前処置を含む65症例のreviewによると、血縁者間移植では5年生存率71%に対し、非血縁者間移植では2年生存率は31%であった²⁶⁾。近年、骨髄非破壊的前処置が行われるようになってきており、少ない合併症で血液学的回復を得る事が可能となってきている²⁸⁻³⁰⁾。表4に推奨する前処置を示す。移植ドナーはHLA一致同胞が第一選択であるが、潜在的な患者である事を除外するため、家族内のテロメア長スクリーニングを行うべきである。

表4 先天性角化不全症に対する治療方針

1. 軽症 経過観察

2. 中等症 酢酸メテノロンまたはダナゾールの投与

3. やや重症型、重症、最重症

- ・40歳未満で臓器障害（肝臓、肺等）がなければ、HLA一致血縁あるいは非血縁ドナーからの同種骨髄移植*
- ・40歳以上あるいは臓器障害があれば酢酸メテノロンまたはダナゾールの投与

移植前治療はリン酸フルダラピンを含む骨髄非破壊的前治療が望ましい。

- 例) ・HLA一致血縁ドナー Flu: 25mg/m²×4日、CY: 750mg/m²×4日
 ・HLA一産不一致血縁ドナー Flu: 25mg/m²×4日、CY: 750mg/m²×4日、ATG: 2.5mg/kg×4日
 ・HLA一致非血縁ドナー TBI: 3 Gy

Flu: fludarabine、CY: cyclophosphamide、ATG: antithymocytoglobuline、TBI: Total body irradiation

7. 問題点・将来展望

我が国のDC患者は、小児血液学会の再生不良性貧血委員会において患者数の把握や追跡調査がされている。しかし、DCは小児に特有の疾患ではなく、成人で診断される場合も多い。特に、悪性腫瘍、肺線維症の合併

や、自然歴の把握のためには、皮膚科、呼吸器内科、耳鼻咽喉科などを含めた疾患登録システムが望まれる。また、骨髄非破壊的前処置を用いた移植により短期的な予後に関しては改善が見られているが、移植がDCの自然歴に及ぼす長期的な影響、予後に関しては不明であり、小児から成人への受け渡しなど、長期的なフォローアップシステムが必要である。

参考文献

- 1) Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood reviews*. 2010 May ; 24(3): 101-22.
- 2) Yamaguchi H, Calado RT, Ly H, Kajigaya S, Baerlocher GM, Chanoock SJ, et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *The New England journal of medicine*. 2005 Apr 7 ; 352(14): 1413-24.
- 3) Yamaguchi H, Baerlocher GM, Lansdorp PM, Chanoock SJ, Nunez O, Sloand E, et al. Mutations of the human telomerase RNA gene (TERC) in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2003 Aug 1 ; 102(3): 916-8.
- 4) Armanios MY, Chen JJ, Cogan JD, Alder JK, Ingersoll RG, Markin C, et al. Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. *The New England journal of medicine*. 2007 Mar 29; 356(13): 1317-26.
- 5) Cossu F, Vulliamy TJ, Marrone A, Badiali M, Cao A, Dokal I. A novel DKC1 mutation, severe combined immunodeficiency (T+B-NK- SCID) and bone marrow transplantation in an infant with Hoyeraal-Hreidarsson syndrome. *British journal of haematology*. 2002 Dec ; 119(3): 765-8.
- 6) Knight S, Vulliamy T, Coppstone A, Gluckman E, Mason P, Dokal I. Dyskeratosis Congenita (DC) Registry : identification of new features of DC. *British journal of haematology*. 1998 Dec ; 103(4): 990-6.
- 7) Dokal I. Dyskeratosis congenita : recent advances and future directions. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1999 Sep-Oct ; 21(5): 344-50.
- 8) Vulliamy TJ, Marrone A, Knight SW, Walne A, Mason PJ, Dokal I. Mutations in dyskeratosis congenita : their impact on telomere length and the diversity of clinical presentation. *Blood*. 2006 Apr 1 ; 107(7): 2680-5.
- 9) Dokal I. Dyskeratosis congenita in all its forms. *British journal of haematology*. 2000 Sep ; 110(4): 768-79.
- 10) Baerlocher GM, Vulto I, de Jong G, Lansdorp PM. Flow cytometry and FISH to measure the average length of telomeres (flow FISH). *Nature protocols*. 2006 ; 1(5): 2365-76.
- 11) Savage SA, Dokal I, Armanios M, Aubert G, Cowen EW, Domingo DL, et al. Dyskeratosis congenita : The first NIH clinical research workshop. *Pediatric blood & cancer*. 2009 May 4.
- 12) Walne AJ, Marrone A, Dokal I. Dyskeratosis congenita : a disorder of defective telomere maintenance ? *Int J Hematol*. 2005 Oct ; 82(3): 184-9.
- 13) Kirwan M, Dokal I. Dyskeratosis congenita : a genetic disorder of many faces. *Clinical genetics*. 2008 Feb ; 73(2): 103-12.
- 14) Walne AJ, Dokal I. Advances in the understanding of dyskeratosis congenita. *British journal of haematology*. 2009 Feb 4.
- 15) Mitchell JR, Wood E, Collins K. A telomerase component is defective in the human disease dyskeratosis congenita.

- Nature. 1999 Dec 2 ; 402(6761) : 551-5.
- 16) Allsopp RC, Morin GB, DePinho R, Harley CB, Weissman IL. Telomerase is required to slow telomere shortening and extend replicative lifespan of HSCs during serial transplantation. *Blood*. 2003 Jul 15 ; 102(2) : 517-20.
 - 17) Vulliamy T, Marrone A, Szydlo R, Walne A, Mason PJ, Dokal I. Disease anticipation is associated with progressive telomere shortening in families with dyskeratosis congenita due to mutations in TERC. *Nature genetics*. 2004 May ; 36(5) : 447-9.
 - 18) Goldman FD, Aubert G, Klingelhutz AJ, Hills M, Cooper SR, Hamilton WS, et al. Characterization of primitive hematopoietic cells from patients with dyskeratosis congenita. *Blood*. 2008 Feb 29.
 - 19) Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, Klauck SM, Wiemann S, Mason PJ, et al. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nature genetics*. 1998 May ; 19(1) : 32-8.
 - 20) Marrone A, Walne A, Tamary H, Masunari Y, Kirwan M, Beswick R, et al. Telomerase reverse-transcriptase homozygous mutations in autosomal recessive dyskeratosis congenita and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome. *Blood*. 2007 Dec 15 ; 110(13) : 4198-205.
 - 21) Armanios M, Chen JL, Chang YP, Brodsky RA, Hawkins A, Griffin CA, et al. Haploinsufficiency of telomerase reverse transcriptase leads to anticipation in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005 Nov 1 ; 102(44) : 15960-4.
 - 22) Walne AJ, Vulliamy T, Marrone A, Beswick R, Kirwan M, Masunari Y, et al. Genetic heterogeneity in autosomal recessive dyskeratosis congenita with one subtype due to mutations in the telomerase-associated protein NOP10. *Hum Mol Genet*. 2007 Jul 1 ; 16(13) : 1619-29.
 - 23) Vulliamy T, Beswick R, Kirwan M, Marrone A, Digweed M, Walne A, et al. Mutations in the telomerase component NHP2 cause the premature ageing syndrome dyskeratosis congenita. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008 Jun 10 ; 105(23) : 8073-8.
 - 24) Walne AJ, Vulliamy TJ, Beswick R, Kirwan M, Dokal I. TINF2 mutations result in very short telomeres : Analysis of a large cohort of patients with dyskeratosis congenita and related bone marrow failure syndromes. *Blood*. 2008 Jul 30.
 - 25) Savage SA, Giri N, Baerlocher GM, Orr N, Lansdorp PM, Alter BP. TINF2, a component of the shelterin telomere protection complex, is mutated in dyskeratosis congenita. *American journal of human genetics*. 2008 Feb ; 82(2) : 501-9.
 - 26) Alter BP, Giri N, Savage SA, Rosenberg PS. Cancer in dyskeratosis congenita. *Blood*. 2009 Jun 25 ; 113(26) : 6549-57.
 - 27) de la Fuente J, Dokal I. Dyskeratosis congenita : advances in the understanding of the telomerase defect and the role of stem cell transplantation. *Pediatr Transplant*. 2007 Sep ; 11(6) : 584-94.
 - 28) Dietz AC, Orchard PJ, Baker KS, Giller RH, Savage SA, Alter BP, et al. Disease-specific hematopoietic cell transplantation : nonmyeloablative conditioning regimen for dyskeratosis congenita. *Bone marrow transplantation*. 2010 Apr 12.
 - 29) Ostronoff F, Ostronoff M, Calixto R, Florencio R, Domingues MC, Souto Maior AP, et al. Fludarabine,

cyclophosphamide, and antithymocyte globulin for a patient with dyskeratosis congenita and severe bone marrow failure. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007 Mar ; 13(3) : 366-8.

- 30) Nobili B, Rossi G, De Stefano P, Zecca M, Giorgiani G, Perrotta S, et al. Successful umbilical cord blood transplantation in a child with dyskeratosis congenita after a fludarabine-based reduced-intensity conditioning regimen. *British journal of haematology.* 2002 Nov ; 119(2) : 573-4.