

201231055A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

遺伝子修復異常症（Bloom 症候群、Rothmund-Thomson
症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群）の
実態調査、早期診断法の確立に関する研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 金子 英雄

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告	1
遺伝子修復異常症（Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群）の実態調査、早期診断法の確立に関する研究 研究代表者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長）	
II. 分担研究報告	
1. Bloom 症候群に合併した血液腫瘍に対する化学療法の検討	11
研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長） 谷内江昭宏（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授） 田内久道（愛媛大学医学部 准教授）	
2. 長期経過を観察した Bloom 症候群の免疫学的指標に関する研究	13
研究分担者 田内久道（愛媛大学医学部 准教授）	
3. 長期間にわたり経過観察を行った Bloom 症候群の 1 例	14
研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長） 内田 靖（国立病院機構長良医療センター 成育診療部長）	
4. Bloom 症候群の簡易スクリーニング法の検討	16
研究分担者 清河信敬（独立行政法人 国立成育医療研究センター研究所 小児血液・腫瘍研究部 部長）	
5. T 細胞分化障害評価のためのクローンサイズ解析	20
研究分担者 谷内江昭宏（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授）	
6. Bloom 症候群の分子病態・構造解析研究	24
研究分担者 加藤善一郎（岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 臨床教授）	

7. RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の全国調査	26
研究分担者 金子英雄 (国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長)	
山崎直也 (国立がん研究センター 皮膚腫瘍科 科長)	
8. Rothmund-Thomson 症候群の Clinical utility gene card に関する検討	28
研究分担者 深尾敏幸 (岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科 /	
大学院医学系研究科 小児病態学 教授)	
9. Rothmund-Thomson 症候群類似の表現型を呈した症例の遺伝子解析	32
研究分担者 滝田順子 (東京大学医学部附属病院 無菌治療部 講師)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	39
IV. 研究成果の刊行物・別刷	47

I. 厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書

遺伝子修復異常症（Bloom症候群、Rothmund-Thomson症候群、
RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群）の実態調査、
早期診断法の確立に関する研究

研究代表者 金子英雄
(国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長)

遺伝子修復異常症(Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群)の実態調査、早期診断法の確立に関する研究

研究代表者 金子 英雄

国立病院機構長良医療センター臨床研究部長

本年度は、今までに報告された Bloom 症候群について詳細に解析を行った。Bloom 症候群の長期経過では、二次がんの出現がみられること、Bloom 症候群の血液腫瘍における抗がん剤投与では、抗がん剤を減量したプルトコールが用いられていることが明らかになった。フローサイトメーターを用いた BLM タンパクの検出法を確立した。さらに、姉妹染色分体組み換えを簡便にフローサイトメーターにより、検出するための基礎的検討を行った。Bloom 症候群における免疫不全の病態を T 細胞リセプターのレポーターを解析し明らかにした。Rothmund-Thomson の類縁疾患である RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の二次調査を行いそれぞれ、1 例と 2 例を確認した。遺伝子解析は行われていない症例が多く、今後遺伝子解析をもとに、これらの疾患を整理して分類できる可能性があると考えられた。

分担者研究者

深尾 敏幸	岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科医療情報学 教授
谷内江 昭宏	金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授
清河 信敬	国立成育医療センター研究所小児血液・腫瘍研究部 部長
内田 靖	独立行政法人国立病院機構長良医療センター 部長
滝田 順子	東京大学医学部附属病院無菌治療部 講師
山崎 直也	国立がん研究センター皮膚腫瘍科 科長
田内 久道	愛媛大学医学部附属病院 小児科准教授
加藤 善一郎	岐阜大学大学院医学系研究科准教授
研究協力者 近藤 直実	岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 教授
松井 永子	岐阜大学医学部附属病院小児科 講師
寺本 貴英	岐阜大学医学部附属病院小児科 講師
折居 建治	岐阜大学医学部附属院 NICU 准教授

大西 秀典 岐阜大学医学部附属病院小児科 助教

A. 研究目的

Bloom 症候群は、生下時からの小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全を特徴とする常染色体劣性の遺伝病である。さらに際立った特徴は、高率に癌腫が合併することである。国外での報告では、20 歳代までに約 1/3 の Bloom 症候群がなんらかの癌腫を発症している。また、複数の癌腫を合併することもしられており、早期に診断して、定期的にフォローすることが重要である。一方、Rothmund-Thomson 症候群は、小柄な体型、日光過敏性紅斑、多形皮膚萎縮症を特徴とする常染色体劣性の遺伝病である。同様に高率に癌腫（特に、骨肉腫、皮膚扁平上皮癌等）を合併する。RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群は Rothmund-Thomson

症候群の類縁疾患である。欧米の報告では、RAPADILINO 症候群は、以下の特徴を有する。橈骨欠損・低形成 (radial hypoplasia/aplasia)、膝蓋骨低形成 (patella hypoplasia)、口蓋の低形成、口蓋裂 (cleft palate)、慢性の下痢 (diarrhea)、関節の脱臼 (dislocated joints)、小柄な体型 (little size)、四肢の奇形 (limb malformation)、細長い鼻 (nose slender)、正常な知能 (normal intelligence)、多形皮膚萎縮は認められない。一方、Baller-Gerold 症候群は、頭蓋骨早期融合と橈骨欠損・低形成を特徴とすると報告されている。

病因遺伝子はDNAの複製・修復に関与するDNAヘリカーゼであるBLM遺伝子とRECQL4遺伝子である。これらは同様な症状を示し、診断に苦慮する場合も少なくない。本年度は、報告されたBloom症候群の個々の症例について詳細に解析を行った。迅速診断法の確立、免疫能の解析のためT細胞レポーターを解析した。また、RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群の二次調査を行った。Rothmund-Thomson症候群類似の疾患の病因遺伝子解析を行った。

B. 研究方法

一次アンケートは、今までに当該施設において Bloom 症候群または Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の確定例または、疑い例を診療したことがあるかについて、質問した。送付先は、全国の小児科専門医研修施設 515 病院、皮膚科専門医研修施設 500 病院、がん診療拠点病院 377 病院に対して、アンケート調査を行った。一次調査で診療経験ありの回答を得た施設に二次調査票を送付し、詳細な検討

を行った。

Bloom 症候群において、長期経過観察を行った症例と、造血器腫瘍が認められた症例につきそのプロトコルを解析した。

Bloom 症候群では、免疫機能に障害が認められるが、免疫細胞のどの分化段階で、障害が生じているかを明らかにするため T 細胞のレポーターについてフローサイトメーターを用いて解析した。

Bloom 症候群の病因遺伝子産物 BLM の発現を迅速に解析することで Bloom 症候群の、簡易スクリーニング法を確立するために、細胞の培養条件を変えて、発現の変化について検討した。

(倫理面への配慮)

臨床情報を収集する場合は、連結可能匿名化する。一次調査、二次調査に関しては、「Bloom 症候群とその類縁疾患の実態調査、早期診断法の確立に関する研究」、遺伝子変異解析に関しては、「先天性免疫不全症の原因遺伝子同定および病態形成機序の解明」として、倫理委員会の承認を既に得ている。十分なインフォームドコンセントを行ったのち、書面にて署名を得て行った。

C. 研究結果

1) Bloom 症候群に合併した血液腫瘍に対する化学療法の検討

Bloom 症候群の特徴に、高率な癌腫の合併がある。しかし、その治療法は個々の症例ごとに異なっている。今回、全国調査により Bloom 症候群に血液腫瘍を合併した 3 症例についてプロトコルを検討した。Bloom 症候群の抗がん剤に対する感受性を考量して、通

常施行されているプロトコールより抗がん剤の量や投与回数が減量されていた。今後、さらに症例の集積が続け、分子標的療法などの、より効果的な化学療法のプロトコールについて検討することが必要である。

2) 長期経過を観察した Bloom 症候群の免疫学的指標に関する研究

28年間経過観察を行った Bloom 症候群の男性に対して、免疫学的検査指標を経時的に観察した。白血球数とリンパ球数は経過とともに減少した。IgG は低値であったが、経時的な変化はみられなかった。ウイルス抗体価の獲得は良好であった。

3) 長期間にわたり経過観察を行った

Bloom 症候群の 1 例

Bloom 症候群の女性症例を長期にわたり経過観察を行った。Bloom 症候群の同胞例であり、兄は非ホジキンリンパ腫にて 23 歳時に死亡している。本人も B 細胞非ホジキンリンパ腫の既往があり、25 歳時に小児 ALL の半量のプロトコールを行い寛解を続けていた。40 歳ごろより、再生不良性貧血 (stage I) を併発し、左副咽頭間隙扁平上皮癌を発症した。Bloom 症候群の長期の経過観察を行う場合、2 次癌、3 次癌に対する早期発見、対処法の確立が重要と考えられた。

4) Bloom 症候群の BLM タンパクの発現

Bloom 症候群の簡易スクリーニング法として、フローサイトメトリーによる BLM 蛋白検出法の確立を試みた。昨年度までの検討結果をもとに、Bloom 患者由来細胞株を用いた検討によって、最も特異性の高いマウス単クローン性抗 BLM 抗体を選定した。

今後、さらに特異性の確認に関する検討を進める。FCM による BLM 蛋白検出は、Bloom 症候群診断の簡易スクリーニング法としての応用が期待される。一方、フローサイトメトリーによる sister chromatid exchange (SCE) 検出法について検討し、thymidine の analog である 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) と Propidium iodide を組み合わせ、細胞の増殖に伴って新たに合成された娘 DNA 鎖と染色体全体を同時にラベルし、フローサイトメトリー解析を行なった結果、個々の染色体の EdU の取り込みを検出することが可能であることが示された。今後さらに検討を進め、SCE 検出法への応用を目指す。

5) Bloom 症候群の T 細胞分化障害評価のためのクローンサイズ解析

Bloom 症候群における免疫異常は、易感染性として現れることは少ないが、染色体脆弱性と合わせて、将来の発癌との関連が強く示唆される。本疾患における T 細胞多様性解析の対象として、種々の T 細胞分化障害、自己免疫疾患などにおける同様の解析データが有用であり、成果を蓄積している。特に、DiGeorge 症候群における解析では、著しい T 細胞分化障害とそれによるオリゴクローナルな T 細胞活性化が、Omen 症候群類似の病態発現と強く関連していることが示唆された。

6) Bloom 症候群の分子病態・構造解析研究

遺伝子型—表現系相関解析について、大腸菌システムを用いた発現系の確立を行い、ヘリカーゼドメイン等を精製し、構造機能相関

解析を行うことを目的とした。大腸菌システムにおける発現・精製は可能となっているが、立体構造解析までには至っておらず、今後、さらにシステムの改良が必要と考えられた。これまで関連が指摘されていない変異・多型についても、そのリスクが考慮される必要があり、遺伝子変異をもつヒトキャリアを含めた医療の確立において、BLM タンパクにおける変異の影響について、さらなる機能・構造解析が必要である。

7) RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の全国調査

Rothmund-Thomson 症候群の類縁疾患として、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群が知られている。しかし、本邦での実態は不明であった。本研究班で二つの症候群の全国調査を行った。RAPADILINO 症候群 1 例、Baller-Gerold 症候群 2 例の報告があった。橈骨欠損、母指欠損などの臨床症状から診断がなされていた。RECQL4 遺伝子検索はされていなかった。臨床症状に加えて RECQL4 遺伝子検査等により診断の精度を高める必要がある。これらの疾患は RECQL4 異常症として、Rothmund-Thomson 症候群も含めて 3 疾患を包括して整理が可能であると考えられた。

8) Rothmund-Thomson 症候群の Clinical utility gene card に関する検討

ヨーロッパにおいて EuroGentest の遺伝学的検査の臨床的有用性が個々の疾患について示されている。Clinical utility gene card という名称で専門家によって作成され Eur J Hum Genet に公表されている。本年 Rothmund-Thomson 症候群についても公表され、本邦においても有用な

情報源になると考え、その内容について検証した。

9) Rothmund-Thomson 症候群類似の表現型を呈した症例におけるエクソーム解析

Rothmund-Thomson 症候群 (RTS) は多形成皮膚萎縮症、低身長、白内障、骨形成異常、骨肉腫の合併を特徴とする早老症であり、予後不良な遺伝子修復異常症である。原因の一部として RECQL4 の変異が報告されているが、発症機構は十分解明されておらず有効な治療法も確立されていない。正確な分子診断や有効な治療法の確立のためにも、本症の発症機構の解明は重要と考えられる。そこで、RTC の発症分子機構を解明するために多重がん、精神運動発達遅滞、低身長、骨異常、先天性白内障を合併し、RTS 類似の表現型を呈した症例におけるエクソーム解析を施行した。その結果、本症例に合併した横紋筋肉腫および脳腫瘍では共通する腫瘍特異的な遺伝子変異は検出されなかったが、それぞれ細胞周期関連遺伝子などドライバー変異と考えられる遺伝子異常が複数検出された。これらの遺伝子変異が腫瘍の発症に関与している可能性が示唆された。

D. 考 察

本研究班の目的は、Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群とその類縁疾患である RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の本邦における、実態を明らかにし、診断指針の作成を行うことである。今年度は、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群に関して、本邦における実態を明らかにした。Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群の、生命予後を左右するのは、悪性

腫瘍の合併である。長期経過では、2次癌の出現が観察される。今回、3症例の治療プロトコールについて検討したが、今後さらに症例を集積していきたい。

E. 結論

平成24年度難治性疾患克服研究事業、研究奨励分野の「遺伝子修復異常症(Bloom症候群、Rothmund-Thomson症候群、RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群)の実態調査、早期診断法の確立に関する研究」班にて、Bloom症候群、Rothmund-Thomson症候群、RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群の本邦における実態を明らかにすることができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

著書

1) 金子英雄 色素脱失を伴う免疫不全症 156-158

自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患 編集 近藤直実、平家俊男 診断と治療社 2012

2) 金子英雄 DNA修復障害 248
自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患 編集 近藤直実、平家俊男 診断と治療社 2012

3) 金子英雄 毛細血管拡張性小脳失調症(ataxia-telangiectasia) 249-250
自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患 編集 近藤直実、平家俊男 診断と治療社 2012

4) 金子英雄 Bloom症候群 251-252
自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患 編集 近藤直実、平家俊男 診断と治療社 2012

総説

1) 金子英雄 免疫不全を伴う特徴的な症候群 —毛細血管拡張症、Bloom症候群— 小児科診療 76:413-418:2013

2) 金子英雄 Bloom症候群 別冊日本臨床 先天代謝異常症候群(第2版) No.19 641-644:2012

3) 金子英雄 ロスマンド・トムソン症候群 先天代謝異常症候群(第2版) No.19 681-683:2012

論文

1) Tanaka H, Shimazawa M, Takata M, Kaneko H, Tsuruma K, Ikeda T, Warita H, Aoki M, Yamada M, Takahashi H, Hozumi I, Minatsu H, Inuzuka T, Hara H.

ITIH4 and Gpx3 are potential biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol. 2013 Feb 23.

2) Funato M, Kaneko H, Sasai H, Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Kato Z, Kondo N
Peripheral blood stem cell transplantation in a significant body weight difference between a smaller donor and a larger recipient: A case report. Transfus Apher Sci. 2013

3) Kubota K, Ohnishi H, Teramoto T, Matsui E, Murase K, Kanoh H, Kato Z, Kaneko H, Seishima M, Kondo N.
In Vitro Analysis of the Functional Effects of an NLRP3 G809S Variant with the co-Existence of MEFV Haplotype Variants in Atypical Autoinflammatory Syndrome.

- J Clin Immunol. 2013 Feb;33(2):325-34.
- 4) Teramoto T, Matsui E, Fukao T, Sakai K, Yonezawa H, Kato Z, Ohnishi H, Kaneko H, Kondo N, Azuma J, Nishima S.
Repeated-dose pharmacokinetics of inhaled ciclesonide (CIC-HFA) in Japanese children with bronchial asthma: a phase I study.
Allergol Int. 2012 Dec;61(4):619-24.
- 5) Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kanda K, Ozeki M, Mizuta K, Hirose Y, Kaneko H, Kondo N.
Paclitaxel-based chemotherapy for aggressive kaposiform hemangioendothelioma of the temporomastoid region: Case report and review of the literature.
Head Neck. 2012 Aug 21.
- 6) Hori T, Ohnishi H, Teramoto T, Tsubouchi K, Naiki T, Hirose Y, Ohara O, Seishima M, Kaneko H, Fukao T, Kondo N.
Autosomal-dominant chronic mucocutaneous candidiasis with STAT1-mutation can be complicated with chronic active hepatitis and hypothyroidism.
J Clin Immunol. 2012 Dec;32(6):1213-20.
- 7) Kawamoto N, Fukao T, Kaneko H, Hirayama K, Sakurai S, Arai T, Kondo M, Kawamoto M, Matsui E, Teramoto T, Kasahara K, Bai C, Zhang G, Omoya K, Matsukuma E, Morimoto M, Suzuki H, Aoki Y, Kimura T, Nada M, Morita H, Tokumi T, Takemura M, Seishima M, Shiraki M, Iwasa S, Kondo N.
Risk factors for infantile atopic dermatitis and recurrent wheezing.
J Investig Allergol Clin Immunol. 2012;22(2):116-25.
- 8) Ohnishi H, Teramoto T, Iwata H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Nishikomori R, Kaneko H, Seishima M, Kondo N.
Characterization of NLRP3 variants in Japanese cryopyrin-associated periodic syndrome patients.
J Clin Immunol. 2012 Apr;32(2):221-9.
- 9) Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kubota K, Yamamoto T, Matsui E, Teramoto T, Fukao T, Kasahara K, Kondo N.
Structural property of soybean protein P34 and specific IgE response to recombinant P34 in patients with soybean allergy.
Int J Mol Med. 2012 ;29:153-8.
- 10) Okubo J, Takita J, Chen Y, Oki K, Nishimura R, Kato M, Sanada M, Hiwatari M, Hayashi Y, Igarashi T, Ogawa S: Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma. Oncogene. 2012 Jan 16. doi: 10.1038/onc.2011.616. [Epub ahead of print]
- 11) Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y: CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol.156: 672-674, 2012
- 12) Miura K, Sekine T, Takamizawa M,

- Terashima H, Furuya A, Koh K, Takita J, Ida K, Igarashi T: Early occurrence of nephrotic syndrome associated with cord blood stem cell transplantation. *Clin Exp Nephrol.* Oct 12. 2011 [Epub ahead of print]
- 13) Takita J, Chen Y, Okubo J, Sanada M, Adachi M, Ohki K, Nishimura R, Hanada R, Igarashi T, Hayashi Y and Ogawa S: Aberrations of NEGR1 on 1p31 and MYEOV on 11q13 in neuroblastoma. *Cancer Science.* 102:1645-1650, 2011
- 14) Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y: CBL mutation in childhood therapy-related leukemia. *Leukemia.* 25: 1356-1358, 2011
- 15) Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J, Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S: IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies. *Leukemia.* 25:382-384, 2011
- 16) Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y: Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. *Cancer Sci.* 102:302-308, 2011
- 17) Yoshida K, Sanada M, Kato M, Kawahata R, Matsubara A, Takita J, Shih LY, Mori H, Koefler HP, Ogawa S: A nonsense mutation of IDH1 in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Leukemia.* 25:184-186, 2011
- 18) Takahashi K, Oka A, Mizuguchi M, Saitoh M, Takita J, Sato A, Mimaki M, Kato M, Ogawa S, Igarashi T: Interstitial deletion of 13q14.13-q32.3 presenting with Arima syndrome and bilateral retinoblastoma. *Brain Dev.* 33:353-356, 2011
- 19) 加藤元博, 真田昌, 加藤格, 佐藤康晴, 滝田順子, 竹内賢吾, 丹羽明, 陳玉彦, 中崎久美, 野本順子, 朝倉義崇, 赤塚美紀, 林泰秀, 森啓, 五十嵐隆, 黒川峰夫, 千葉滋, 森茂郎, 石川雄一, 岡本康司, 飛内賢正, 中釜斉, 中畑龍俊, 吉野正, 小林幸夫, 小川誠司: B細胞性悪性リンパ腫におけるA20の遺伝子変異による不活性化(解説). *臨床血液* 52 : 313-319, 2011
- 20) 滝田順子: 【神経芽腫】 神経芽腫の分子病態と ALK 遺伝子の異常(解説/特集) *Pharma Medica.*29:45-49, 2011
- 21) 滝田順子: リボソームの異常による造血器疾患(解説). *血液内科* 62:256-261, 2011
- 22) Iijima K, Yamada H, Miharuru M, Imadome KI, Miyagawa Y, Akimoto S, Kobayashi K, Okita H, Nakazawa A, Fujiwara S, Fujimoto J, Kiyokawa N. ZNF385B is characteristically expressed in germinal center B cells and involved in B-cell apoptosis. *Eur J Immunol.* (in press, 2012 Sep 4. doi: 10.1002/eji.201242530. [Epub ahead of print])
- 23) Sato B, Katagiri YU, Iijima K, Yamada H, Ito S, Kawasaki N, Okita H, Fujimoto J, Kiyokawa N. The human CD10 lacking an N-glycan at Asn(628) is deficient in surface expression and

- neutral endopeptidase activity. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Nov;1820(11):1715-23.
- 24) Yamada H, Iijima K, Tomita O, Taguchi T, Miharuru M, Kobayashi K, Okita H, Saito M, Shimizu T, Kiyokawa N. Effects of insulin-like growth factor-1 on B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol*. (in press)
- 25) Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Hasegawa Y, Toyoshima M, Haapalainen AM, Kuwada N, Imamura M, Yuasa I, Wierenga RK, Yamaguchi S, Kondo N. Three Japanese Patients with Beta-Ketothiolase Deficiency Who Share a Mutation, c.431A>C (H144P) in ACAT1 : Subtle Abnormality in Urinary Organic Acid Analysis and Blood Acylcarnitine Analysis Using Tandem Mass Spectrometry. *JIMD Rep*. 2012;3:107-15.
- 26) Hori T, Fukao T, Murase K, Sakaguchi N, Harding CO, Kondo N. Molecular Basis of Two-Exon Skipping (Exons 12 and 13) by c.1248+5g>a in OXCT1 Gene: Study on Intermediates of OXCT1 Transcripts in Fibroblasts. *Hum Mutat*. 2013 Mar;34(3):473-80.
- 27) Ozeki M, Kanda K, Kawamoto N, Ohnishi H, Fujino A, Hirayama M, Kato Z, Azuma E, Fukao T, Kondo N. Propranolol as an alternative treatment option for pediatric lymphatic malformation. *Tohoku J Exp Med*. 2013;229(1):61-6.
- 28) Kanegane H, Taneichi H, Nomura K, Wada T, Yachie A, Imai K, Ariga T, Santisteban I, Hershfield MS, Miyawaki T. Successful bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning in a patient with delayed-onset adenosine deaminase deficiency. *Pediatr Transplant*. 2013 Feb;17(1):E29-32.
- 29) Kawai T, Saito M, Nishikomori R, Yasumi T, Izawa K, Murakami T, Okamoto S, Mori Y, Nakagawa N, Imai K, Nonoyama S, Wada T, Yachie A, Ohmori K, Nakahata T, Heike T. Multiple reversions of an IL2RG mutation restore T cell function in an X-linked severe combined immunodeficiency patient. *J Clin Immunol*. 2012 Aug;32(4):690-7.
- 30) Nada M, Ohnishi H, Tochio H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Yamamoto T, Kamatari YO, Tsutsumi N, Shirakawa M, Kondo N. Molecular analysis of the binding mode of Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain proteins during TLR2 signaling. *Mol Immunol*. 52, 108-116, 2012
- 31) Ohnishi H, Tochio H, Kato Z, Kawamoto N, Kimura T, Kubota K, Yamamoto T, Funasaka T, Nakano H, Wong RW, Shirakawa M, Kondo N. TRAM Is Involved in IL-18 Signaling and Functions as a Sorting Adaptor for MyD88. *PloS One*. 7, e38423, 2012
- 32) 加藤善一郎, 大西秀典, 近藤直実: 自己炎症性疾患 1. 自己炎症性疾患 総論. 自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患.

62-66, 診断と治療社, 2012

33) 加藤善一郎, 大西秀典, 近藤直実: 自然免疫不全症 4. ヒトパピローマウイルス易感染症 (WHIM 症候群・疣贅状表皮発育異常症). 自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患. 115-116, 診断と治療社, 2012

34) 加藤善一郎, 近藤直実: 分子標的治療とその機序. アレルギー疾患の免疫療法と分子標的療法. 21-26 診断と治療社, 2012

2. 学会発表

金子英雄、内田靖、大西秀典、深尾敏幸、谷内江昭宏、清河信敬、滝田順子、山崎直也、田内久道、近藤直実
本邦における Bloom 症候群の実態調査
第 49 回日本小児アレルギー学会 大阪
2012 年 9 月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

Ⅱ. 厚生労働科学研究費補助金分担研究報告書

遺伝子修復異常症（Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群）
の実態調査、早期診断法の確立に関する研究

Bloom 症候群に合併した血液腫瘍に対する化学療法の検討

研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長）
研究分担者 谷内江昭宏（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授）
研究分担者 田内久道（愛媛大学医学部 准教授）

研究要旨: Bloom 症候群の特徴に、高率な癌腫の合併がある。しかし、その治療法は個々の症例ごとに異なっている。今回、全国調査で報告された Bloom 症候群に血液腫瘍を合併した 3 症例についてプロトコルを検討した。Bloom 症候群の抗がん剤に対する感受性を考量して、通常施行されているプロトコルより抗がん剤の量や投与回数が減量されていた。今後、さらに症例の集積が続け、分子標的療法などの、より効果的な化学療法のプロトコルについて検討することが必要である。

A. 研究目的

Bloom 症候群は、小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全を特徴とするが、際立った特徴は高率に認められる癌腫の合併である。本研究班の、全国調査でも Bloom 症候群の 9 例中 7 例に癌腫の合併があった。Bloom 症候群に合併した癌腫の治療法は、個々の症例で、通常のプロトコルと異なっていることが推測されるが、その実態は明らかではない。今回、全国調査で明らかになった血液腫瘍合併の 3 症例について、用いられたプロトコルを比較した。

B. 研究方法

異なる 3 施設の血液腫瘍を合併した Bloom 症候群の 3 人の患者データから、治療プロトコルを抽出した。個人情報保護には細心の注意を払った。

C. 研究結果

症例 1 9 歳 12 指腸の diffuse medium sized cell type lymphoma (B cell)

TCCSG B-8801 Protocol をもとに減量を行った。手術の後 Block1 を施行。その後 Block2 と Block3 を交互にそれぞれ 6 回ずつ施行した。ドーズや回数を変更した場合を→で示した。

Block1

VP16 (100mg/m² 変更なし) day1, 2, 3, 4
CY (1.2g/m²→0.5g/m²) day7
MTX (3g/m²/12h→1.5g/m²/12h) day13
ADM(50mg/m²→30mg/m²) day16
PDS(60mg/m² 変更なし) day1~18
髄注 (MTX15mg/m², HDC30mg/m², AraC30mg/m²) 4 回
day2, 4, 6, 13→2 回 day2, 13

Block2

VCR(1.5mg/m² 変更なし) day1
CY(1.2g/m²→0.5g/m²) day2
ADM(30mg/m² 変更なし) day5
VP16(200mg/m²→100mg/m²) day8, 9, 10, 11
BH-AC(200mg/m²→50mg/m²) day8, 9, 10, 11
PDS(60mg/m² 変更なし) day1~11
髄注 (MTX15mg/m², HDC30mg/m², AraC30mg/m²) day5 変更なし

Block3

VCR(1.5mg/m²→1mg/m²) day1
MTX (3g/m²/12h→1.5g/m²/12h) day2
ADM(30mg/m² 変更なし) day5

VP16 (200mg/m²→100mg/m²) day8, 9, 10, 11
CY (200mg/m²→100mg/m²) day8, 9, 10, 11
髄注 (MTX15mg/m², HDC30mg/m²,) day2 変更なし

症例 2 25歳 非ホジキンリンパ腫 (diffuse large B cell lymphoma)

東海小児がん研究会 9104 ALLのスタンダードリスキのプロトコールの半量で治療が行われた¹⁾。

vincristine 0.75mg/m² on days
1, 8, 15, 22, 29, 71, 85, 99, 113, 127, 134, 141
dexamethasone 6mg/m² on days 1-7 and 127-133
predonisolone 30mg/m² on days 8-14 and 134-140
predonisolone 15mg/m² on days 15-28
L-asparaginsae 5000IU/ml on days
15, 18, 21, 24, 27, 30, 87, 101 and 115
methotrexate 6mg/m², cytarabine 15mg/m² and
hydrocortisone 10mg/m² intrathecally on days
22, 29, 36, 43, 72, 86, 100 and 114
daunorubicin 15mg/m² on days 43, 50 and 57
cytarabine 35mg/m² on days 44-47, 51-54 and 58-61
mercaptopurine 25mg/m² on days 36-63
methotrexate 1500mg/m² on days 85, 99 and 113 with
leucovorin rescue
cyclophosphamide 300mg/m² on days 87, 101 and 115
pirarubicine 15mg/m² on days 127, 134 and 141
enocitabine 50mg/m² on days 128-131, 135-138 and
142-145.

症例 3 16歳 AML

(13歳時に 頸部の非ホジキンリンパ腫 (diffuse large B cell lymphoma)を発症したが、化学療法後寛解を維持)。

CCLSG9805RE protocol AVC1の半量のプロトコールが
用いられた (50% dose:AraC 50mg/m² 7日間,
THP-ADR20mg/m², VCR0.5mg/m²)。ITはAraC 20mgと
HDC25mgの2剤投与を行った。

癌剤に対する感受性の亢進などを考慮して、通常の治療プロトコールとは異なるプロトコールが用いられていた。今回、異なる3施設での血液腫瘍のプロトコールを解析したところ、どの症例も通常の1/2程度に減量したプロトコールを用いていた。今後、さらに症例を蓄積すると同時に、リツキサンなどの分子標的療法の有効性についても検討していきたい。

E. 研究発表

1) Kaneko H, Inoue R, Yamada Y, Fukao T, Kondo N. Management of malignant lymphoma in two siblings with Bloom's syndrome. *Oncology Reports* 4: 1281-1283; 1997.

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

D. 考察と結論

Bloom症候群には、高率に癌腫の合併をみる。なかでも、血液腫瘍の頻度が多い。Bloom症候群では、抗

長期経過を観察した Bloom 症候群の免疫学的指標に関する研究
研究分担者 愛媛大学医学部 准教授 田内久道

研究要旨

28 年間経過観察を行った Bloom 症候群の男性に対して、免疫学的検査指標を経時的に観察した。白血球数とリンパ球数は経過とともに減少した。IgG は低値であったが、経時的な変化はみられなかった。ウイルス抗体価の獲得は良好であった。

A. 研究目的

Bloom 症候群では免疫不全による易感染性が観察されその原因として免疫グロブリン低値、B 細胞の分化・増殖障害、T 細胞数減少、NK 細胞数および活性の低下があげられているが、成長にともなうそれらの変化に関しては明らかとなっていない。今回小児期より成人期まで観察しえた Bloom 症候群の症例に関して、成長に伴う免疫学的指標と臨床症状の変化に関して明らかにする。

B. 研究方法

28 歳まで継続して診療を行った Bloom 症候群の男性に関して、免疫学的検査値を診療録より抽出し経時的に解析する。

(倫理面への配慮)

本人を特定しない形で症例を解析する。また、発表に当たっては本人の同意を得る。

C. 研究結果

白血球数は幼児期には約 $6000/\mu\text{l}$ であったが、10 歳代では $4000\sim 5000/\mu\text{l}$ 、20 歳代は $3000\sim 5000/\mu\text{l}$ と減少傾向であった。リンパ球数は幼児期には $3000\sim 4000/\mu\text{l}$ であったが、10 歳代では $1000\sim 2000/\mu\text{l}$ 、20 歳代は $1000/\mu\text{l}$ 前後であり経過による減少を認めた。

免疫グロブリンでは IgG は経過を通して $300\sim 600\text{mg/dl}$ と低値ではあったが経時的な変化はなかった。IgA は学童期は 100mg/dl 以下であったが 18 歳以降は 100mg/dl 前後と増加していた。IgM は経過を通して 50mg/dl 以下と低値であった。

リンパ球表面マーカーは 28 歳時の検査では CD4 が 17%、CD8 が 41% と CD4 リンパ球の減少を認めた。

ウイルス抗体価の解析では、EB ウイルス及び水痘帯状疱疹ウイルスに関しては自然感染による抗体価の獲得を確認した。風疹、麻疹に関してはワクチンによる抗体獲得を確認し、28 歳の現在も抗体価の低下はなかった。

リンパ球幼若化反応と NK 細胞活性は正常反応であった。

D. 考察

Bloom 症候群の症例で、年齢の経過によるリンパ球数の減少を確認した。CD4 リンパ球の減少も認めた。Bloom 症候群の易感染性の病態は年齢に伴い変化する可能性がある。

E. 結論

長期間経過を観察し得た Bloom 症候群症例で、リンパ球数の経過による減少を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

遺伝子修復異常症（Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群）
の実態調査、早期診断法の確立に関する研究

長期間にわたり経過観察を行った Bloom 症候群の 1 例

研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長）

研究分担者 内田 靖（国立病院機構長良医療センター 成育診療部長）

研究要旨：Bloom 症候群の女性症例を長期にわたり経過観察を行った。Bloom 症候群の兄妹例であり、兄は非ホジキンリンパ腫にて 23 歳時に死亡している。本人も B 細胞非ホジキンリンパ腫の既往があり、25 歳時に小児 ALL の半量のプロトコールを行い寛解を続けていた。40 歳ごろより、再生不良性貧血（stage I）を併発し、左副咽頭間隙扁平上皮癌を発症した。Bloom 症候群の長期の経過観察を行う場合、2 次癌、3 次癌に対する早期発見、対処法の確立が重要と考えられた。

研究協力者

丹下直幸（大垣市民病院血液内科）

小杉浩史（大垣市民病院血液内科）

23 歳 時に死亡

経過：7 月 2 日 左顔面神経麻痺の出現。

7 月 9 日 A 病院神経内科受診。MRI にて、左乳突炎と診断されたが、近医耳鼻咽喉科経由で A 病院耳鼻咽喉科へ紹介となった。画像所見にて悪性リンパ腫等が疑われた(図)。

8 月 13 日 開頭腫瘍生検にて左副咽頭間隙の扁平上皮癌と術中迅速診断された。

8 月 27 日から 9 月 23 日まで TS-1 の内服が開始されたが、骨髄抑制のため中止

8 月 28 日から放射線照射 70 Gy の照射が実施された。

A. 研究目的

Bloom 症候群は、小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全を特徴とするが、際立った特徴は高率に認められる癌腫の合併である。本研究班の、全国調査でも Bloom 症候群の 9 例中 7 例に癌腫の合併があった。Bloom 症候群において、癌腫を治療した後の、長期予後は明らかではない。今回、25 歳時に B 細胞リンパ腫を発症したが寛解し、その後、42 歳で 2 次癌の発生をみた症例を経験したため報告する。

B. 研究方法

Bloom 症候群の患者の長期経過について、データを抽出した。個人情報保護には細心の注意を払った。

C. 研究結果

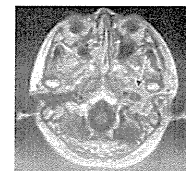
症例：42 歳 女性

主訴：顔面神経麻痺

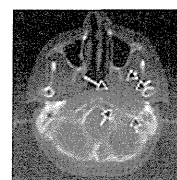
既往歴：B-NHL 既往 25 歳時に加療（小児 ALL プロトコールの半量投与）

家族歴：兄が Bloom 症候群。悪性リンパ腫にて

図 画像所見



頭部 MRI
左錐体を破壊する腫瘍を認める。一部に膿胞状変性を認める。



PET-CT:
左内側翼突筋を中心に、左錐体骨に骨破壊を呈する腫瘍を認める。同部に 43X28X28mm の FDG の非常に強い集積を認める。

骨髓検査：脂肪細胞のみで著しい hypocellular marrow の像

骨髓シンチ：再生不良性貧血（stage1）

末梢血 WBC 3100, Hb 8.9, plt 8.9 万

輸血のみにて経過観察

病理（開頭腫瘍生検）

好酸性腫瘍細胞が敷石状に増殖。一部にケラトヒアリン顆粒の沈着。高分化から中分化型の squamous cell carcinoma

D. 考察と結論

Bloom 症候群では2次癌、3次癌の発生が認められる。Bloom 症候群では化学療法に対する感受性が亢進していると考えられ、腫瘍の治療法としては、早期に発見し、外科的な治療法で根治に導くことが期待される。しかし、本症例のように、比較的まれな腫瘍の発生部位であったり、全摘出が困難な場合は、化学療法の併用が必要となってくる。定期的に外来にて診察しながら効果的に腫瘍の早期発見を行う検査方法の開発が今後期待される。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

遺伝子修復異常症(Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、
Baller-Gerold 症候群)の実態調査、早期診断法の確立に関する研究

Bloom症候群の簡易スクリーニング法の検討

研究分担者 清河 信敬 独立行政法人 国立成育医療研究センター 研究所
小児血液・腫瘍研究部 部長

研究要旨

Bloom 症候群の簡易スクリーニング法として、フローサイトメトリーによる BLM 蛋白検出法の確立を試みた。昨年度までの検討結果をもとに、Bloom 患者由来細胞株を用いた検討によって、最も特異性の高いマウス単クローン性抗 BLM 抗体を選定した。今後、さらに特異性の確認に関する検討を進める。FCM による BLM 蛋白検出は、Bloom 症候群診断の簡易スクリーニング法としての応用が期待される。一方、フローサイトメトリーによる sister chromatid exchange (SCE) 検出法について検討し、thymidine の analog である 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) と Propidium iodide を組み合わせて、細胞の増殖に伴って新たに合成された娘 DNA 鎖と染色体全体を同時にラベルし、フローサイトメトリー解析を行なった結果、個々の染色体の EdU の取り込みを検出することが可能であることが示された。今後さらに検討を進め、SCE 検出法への応用を目指す。

研究協力者

富田理、三春晶嗣（国立成育医療研究センター）

A. 研究目的

Bloom 症候群は、生下時からの小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全を特徴とする常染色体劣性の遺伝形式を示す疾患である。さらに際立った特徴は、高率に癌腫が合併することである。国外での報告では、20 歳代までに約 1/3 の Bloom 症候群がなんらかの癌腫を発症するとされている。また、複数の癌腫を合併することも知られており、早期に診断して、定期的にフォローすることが重要である。しかし、本邦での報告例は極めて少なく、患者数を含め国内におけるその現状は不明な点が多い。さらに、診断法や、診断の指針も十分には確立されてはいない。

本症候群の病因は DNA の複製・修復に関与する RecQ 型 DNA ヘリカーゼの一つである Bloom ヘリカ

ーゼ (BLM) である。ゲノム遺伝子上の *blm* 遺伝子の異常に起因して、BLM 蛋白の異常が起こり、酵素活性が低下することによって、複製・修復能に障害が生じる。細胞レベルでは、染色体の不安定性が強くなり、紫外線による細胞傷害を受けやすくなる。また、DNA が損傷を受けたまま細胞分裂に入る頻度が多くなる結果、姉妹染色分体交換 (sister chromatid exchange SCE) が正常細胞の 10-15 倍程度起りやすくなるとされている。そのため、Bloom 症候群の確定診断には SCE の増加が参考となる。

通常、SCE の検出は、被検細胞を thymidine の analog である臭素化デオキシウリジン (BrDU) 添加培養によって、細胞分裂中に合成される DNA 鎖に BrDU を取り込ませ、M 期に同調させた後、染色体標本を作製して、BrDU を蛍光標識抗 BrDU 抗体によって検出し、蛍光顕微鏡を用いた観察によって、SCE の増加を検出する。すなわち、健常人では、2 本鎖の染色体のうち、